

Eine vergleichende Untersuchung zweier Bestimmungsmethoden der Serumcholinesterase

von

STEPHAN SCHMIDINGER

München 1965



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER ANÄSTHESIEABTEILUNG (Leiter Priv.Doiz. Dr.A.Doenicke)

DER CHIRURGISCHEN POLIKLINIK

DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr.F. Holle

Eine vergleichende Untersuchung zweier Bestimmungsmethoden
der Serumcholinesterase

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Stephan Schmidinger

München

1965



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.Doiz. Dr.Alfred Doenicke

Mitberichterstatter: Prof. Dr.Fritz Holle

Dekan: Prof. Dr.Otto Hug

Tag der mündlichen Prüfung: 30. Juli 1965

Inhaltsverzeichnis

=====

A. Einleitung

B. Die Bedeutung der Substratauswahl und die Bestimmungsmethoden der Serumcholinesteraseaktivität

C. Methodik

Ergebnisse

1. Der methodische Meßfehler

2. Das Untersuchungsgut

3. Die Beziehung der mit beiden Methoden gemeinsam gemessenen Werte der Serumcholinesteraseaktivität bei dem normalen Gentypus (DN 75 - 100)

a) Die Hyperbelfunktion

b) Die lineare Funktion

Die einzelnen Regressionsgeraden und ihre Berechnung

c) Die gemeinsamen Übergangswerte der beiden Bestimmungsmethoden von normaler zu pathologisch erniedrigter Serumcholinesteraseaktivität

d) Die Streuung der Serumcholinesteraseaktivität um die Übergangswerte von normaler zu pathologisch erniedrigter Enzymaktivität bei beiden Methoden

4. Die Beziehung der mit beiden Methoden gemeinsam gemessenen Werte der Serumcholinesteraseaktivität bei den genetisch bedingten Varianten

E. Diskussion

F. Zusammenfassung

A Einleitung:

Die Cholinesterasen sind Enzyme, die Cholinester schneller hydrolysieren als die Ester anderer aliphatischer und aromatischer Alkohole.

In den Arbeiten zum Thema der Cholinesterasen lassen sich zwei zeitliche Abschnitte unterscheiden.

Der erste Abschnitt umfaßt jene Arbeiten, die noch keine Unterscheidung in die biochemisch und biologisch differenzierten Gruppen der Cholinesterasen machen. Die Suche nach cholinesterspaltenden Enzymen wurde 1914 von DALE eingeleitet. Dieser beobachtete die kurzdauernde Wirkung von intravenös injizierten Acetylcholin auf den Blutdruck und nahm als Ursache dieser Wirkung einen im Blut vorhandenen Stoff an, der Acetylcholin sehr schnell abbaut. Diese Vermutung von DALE wurde in der Folgezeit durch weitere zahlreiche Untersuchungen untermauert.

Die rasche Inaktivierung des Acetylcholins durch einen Herzmuskelextrakt sahen LÖWIS und NAVRATIL 1925. Im gleichen Jahr konnten ABDERHALDEN und PAFFRATH in überlebenden Darmstückchen vom Schwein und Pferd ein acetylcholinspaltendes Enzym nachweisen. Etwa gleichzeitig stellten ENGELHARDT und LÖWI, PLATTNER und HINTERER fest, daß Acetylcholin sowohl in Organextrakten als auch im Blut durch das gleiche Enzym gespalten wird. 1932 gaben STEDMANN und EASON eine colorimetrische Methode zur Bestimmung der Enzymaktivität an und führten die Bezeichnung "Cholinesterasen" ein. Sie konnten zeigen, daß durch eine Enzymanreicherung im Pferdeserum nicht nur Acetylcholin, sondern auch andere Cholinester bei steigender Kettenlänge mit zunehmender Geschwindigkeit gespalten wurden.

In einem zweiten Abschnitt, der 1940 mit den Arbeiten, von ALLES und MENDELS beginnt, erfolgte eine Differenzierung der Cholinesterasen. So werden zwei in ihrem biologischen und biochemischen Verhalten unterschiedliche Gruppen der Cholinesterasen unterschieden (AUGUSTINSON, RICHTERICH).

1. Die Acetylcholinesterase E.C. 3.1.1. 7 (spezifische Esterase, echte Cholinesterase, Erythrocytenesterase). Ihr alleiniges physiologisches Substrat ist das Acetylcholin. Sie ist in allen tierischen und menschlichen Geweben, die zur Weiterleitung von Impulsen befähigt sind, lokalisiert. Außerdem befindet sich die Acetylcholinesterase (AChE) in der Erythrocytenmembran. Nach neueren Untersuchungen von PILZ soll die AChE auch Bestandteil des menschlichen Serums sein; nach elektrophoretischer Auftrennung im Stärkegel ist sie zwischen der Albumin- und α_1 -Globulinfraktion lokalisiert.
2. Die Serumcholinesterase E.C. 3.1.1.8. (Plasmacholinesterase, Pseudocholinesterase, unspezifische Esterase, Aliesterasen): Ihr physiologisches Substrat ist unbekannt. In vitro werden von der Serumcholinesterase (SChE) zahlreiche Cholinester mit unterschiedlicher Aktivität gespalten; die spezifischen Substrate sind Benzoylcholin und Butyrylcholin. Die SChE kommt in fast allen Geweben vor, hauptsächlich aber im Serum und in der Leber. Im Serum wird die SChE nach elektrophoretischer Auftrennung fast ausschließlich in der α_2 -Globulinfraktion gefunden (COHN). Eine Reindarstellung der SChE ist bisher noch nicht gelungen; das Molekulargewicht wird von 165 000 bis 300 000 angegeben (COHN). Die SChE wird der Gruppe der plasmaspezifischen Enzyme zugeordnet. Als Bildungsstätte wird heute allgemein die Leber angesehen (GÜRTNER, LANG, MAIBACH, MAIER und RICHTERICH), in der Leberzelle ist die SChE in den Mikrosomen lokalisiert. Die SChE-Aktivität im Serum, die bei gesunden Personen relativ konstant ist, ist abhängig von der aktiven Sekretion des Enzyms in der Leber. Dieser Zusammenhang - Serumcholinesterase im Serum und in der Leber - wird heute vielfach für die Diagnostik der Lebererkrankungen herangezogen. Eine Erniedrigung der SChE-Aktivität soll Ausdruck einer verminderten innersekretorischen Leberzelleistung sein. In zahlreichen Arbeiten wurde bei den verschiedensten Lebererkrankungen eine Depression der SChE-Aktivität nachgewiesen. Der

diagnostische Wert einer Bestimmung der SChE-Aktivität ist jedoch heute sehr umstritten.

In der Chirurgie wurde die praeoperative Bestimmung der Serumcholinesterase zur Beurteilung der Operationsfähigkeit herangezogen (HOLLE, DOENICKE). Eine praeoperativ stark erniedrigte SChE-Aktivität, z.B. bei fortgeschrittenen metastasierenden Carcinomen, bedeutet eine schlechte Prognose für den postoperativen Verlauf.

In der Anästhesie hat die Bestimmung der SChE-Aktivität bei der Verabreichung des Muskelrelaxans Succinylcholin Bedeutung erlangt, da in vielen Fällen ein direkter Zusammenhang zwischen Dauer der Apnoe und Erniedrigung der Cholinesterase im Serum besteht (DOENICKE, STEINBEREITHNER). Von besonderem Interesse sind dabei jene Fälle, bei denen eine erniedrigte SChE-Aktivität nicht auf Grund von Lebererkrankungen, sondern durch genetisch bedingte Varianten der Serumcholinesterase vorliegt.

Von KALOW und Mitarbeitern wurden durch Hemmung der SChE mit Dibucain genetisch bedingte Varianten angegeben. In weiteren Untersuchungen, u.a. von GOEDDE, BAITSCH und Mitarbeitern, wurden zahlreiche homocygote und heterocygote Phänotypen aufgestellt, die alle durch Kombinationen von vier Allelen für den einen autosomalen Genort (CH_1) entstehen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen bestätigen den großen Polymorphismus der Serumcholinesterase.

B. Die Bedeutung der Substratauswahl und die Bestimmungsmethoden der SChE-Aktivität.

Für die genaue Messung der SChE-Aktivität ist die Verwendung eines geeigneten Substrates Voraussetzung. Erschwert wird diese Voraussetzung dadurch, daß sowohl die Acetylcholinesterase (AChE) als auch die Serumcholinesterase zahlreiche Cholinester spalten.

Beide Enzyme lassen sich jedoch einmal durch spezifische Substrate, zum anderen durch ein unterschiedliches Verhalten bei verschiedenen Substratkonzentrationen trennen.

Bei der Spaltung vieler Cholinester nimmt die Aktivität der SchE mit zunehmender Substratkonzentration zu, folgt also der Regel von MICHAELIS-MENTEN, die Acetylcholinesterase wird dagegen durch Substratüberschuß gehemmt (ALLES und HAWES). Spezifische Substrate für die SchE sind Benzoylcholin und Butyrylcholin, die beide nicht von der AChE gespalten werden. Acetylcholin - das physiologische Substrat der AChE - wird von beiden Cholinesterasen hydrolysiert. Dieses Verhalten zeigten BREUER und SCHÖNFELDER in eingehenden Untersuchungen:

Die Spaltung von Acetylcholin durch das Serum nahm in steigender Substratkonzentration zu, ohne in dem untersuchten Bereich ein Maximum zu erreichen. Im Gegensatz dazu zeigte die Spaltung von Benzoylcholin bei der Substratkonzentration von $1 \cdot 10^{-2}$ Mol ein Maximum, während Acetyl- β -methylcholin bei $6,1 \cdot 10^{-2}$ Mol maximal gespalten wurde. Da bekannt ist, daß sich die Acetylcholinesterase sich in relativ hoher Konzentration ohne Beimengung von SchE am Stroma der Erythrocyten befindet, wurde in einem Vergleichsversuch die Spaltung von Acetylcholin, Acetyl- β -methylcholin und Benzoylcholin durch die AChE der Erythrocyten in Abhängigkeit von der Substratkonzentration geprüft. Aus dieser Untersuchungsreihe ist zu entnehmen, daß eine Spaltung von Benzoylcholin nicht beobachtet werden konnte. Der Vergleich beider Untersuchungsergebnisse zeigt, daß Benzoylcholin nur von der Cholinesterase im Serum, nicht aber von der Acetylcholinesterase gespalten wird. Berücksichtigt man noch die Ergebnisse von PILZ und HÖRLEIN, die im Serum eine Acetylcholinesterase-Aktivität nachweisen konnten, so muß eine Bestimmungsmethode, die als Substrat Acetylcholin verwendet, immer ungenau sein. Die Messung der SchE-Aktivität wird auch dann ungenau, wenn durch eine geringe Hämolyse im Blut die Acetylcholinesterase aus den Erythrocyten frei wird.

In der Literatur sind zahlreiche Methoden zum Nachweis der Serumcholinesterase angegeben. Der Zusammenstellung von RICHTERICH sind 25 verschiedene Methoden zu entnehmen.

Die Aktivität der Serumcholinesterase kann auf folgende Weise gemessen werden:

1. Messung der p_H - Verschiebung, die durch die freiwerdende Säure bei der Spaltung der Cholinester entsteht.
(Z.B. Methode nach GLICK, MICHEL)
2. Messung der Menge an CO_2 in Zeiteinheit, die aus einem Bikarbonatpuffer durch die bei der Hydrolyse entstandene Säure frei wird.
(Z.B. Methode nach AMMON)
3. Quantitative colorimetrische Bestimmung derjenigen Menge an Substrat, die nach einer bestimmten Zeit noch nicht durch die SChE gespalten wurde.
(Z.B. Methode nach GOMORI, HESTRIN-METCALF)
4. Messung der enzymatischen Hydrolyse in einer Zeiteinheit mit der spektrophotometrischen Methode nach KALOW, bei der als Substrat Benzoylcholin verwendet wird. Da das Substrat im UV-Bereich bei 240 m μ absorbiert, die Reaktionsprodukte Cholin und Benzoessäure aber keine Absorption bei dieser Wellenlänge zeigen, läßt sich an der Abnahme der Absorption die Umsetzung des Benzoylcholins im Spektrophotometer direkt verfolgen. Die Aktivität ergibt sich aus der Absorptionsdifferenz pro Zeiteinheit.

Die unter 1 bis 4 angeführten Bestimmungsmethoden der SChE-Aktivität erfordern einen relativ großen methodischen und zeitlichen Aufwand. Für eine schnelle Routineuntersuchung sind alle angeführten Methoden zu aufwendig.

Auf der Suche nach einer einfachen und leicht durchführbaren Methode beschrieben HERZFELD und STUMPF 1955 erstmals einen Kurztest. Dieser Kurztest bestand aus einem Filtrierpapier bestimmter Größe, das mit Acetylcholin und Bromthymolblau

getränkt war. Die Ermittlung der SChE-Aktivität geschah durch Farbänderung nach Auftragen des Serums. 1959 führten SAILER und BRAUNSTEINER einen auf dem gleichen Prinzip der p_H -Verschiebung beruhenden Testpapierstreifen "ACHOLEST" ein. Der Unterschied zu dem von HERZFELD und STUMPF beschriebenen Papierstreifen besteht u.a. in dem verschiedenen Substrat; in dem ACHOLEST-Testpapier wird keine Acetylcholin als Substrat verwendet (private Mitteilung).

In der Folgezeit sind zahlreiche klinische Untersuchungen und vergleichende Bestimmungen mit anderen, genaueren Bestimmungsmethoden durchgeführt worden (CHURCHIL-DAVIDSON und GRIFFITHS; GOLL; JABSA; LANG; MAIBACH; MAIER; RICHTERICH; SAILER und BRAUNSTEINER; WEIDEMANN). Sie haben gezeigt, daß das ACHOLEST-Testpapier eine gute Methode zur Feststellung einer pathologisch veränderten SChE-Aktivität ist.

- - - - -

In der folgenden Untersuchung werden eine einfache und mit geringem Aufwand verbundene Methode einer für wissenschaftliche Belange erprobte Bestimmung der SChE-Aktivität gegenübergestellt. Es soll die Beziehung der mit beiden Methoden gleichzeitig gemessenen Werte als Ausdruck der SChE-Aktivität geprüft werden.

^{x)} Der Testpapierstreifen ACHOLEST wird von den Österreichischen Stickstoffwerken AG in Linz, Österreich, hergestellt.

C. Methodik:

Aus der Vielzahl der Bestimmungsmethoden wurden zwei Methoden gewählt, die beide als Substrat nicht Acetylcholin verwenden und auf einem verschiedenen Arbeitsprinzip beruhen. Es wurden erstens als einfache und mit geringem Aufwand verbundene Bestimmungsweise der SChE-Aktivität den ACHOLEST-Testpapierstreifen, der auf dem Prinzip der p_H -Verschiebung beruht und unverdünntes Serum benötigt, sowie zweitens die spektrophotometrische Methode nach KALOW verwendet. Bei der letzteren wird Benzoylcholin als Substrat und ein 1 : 100 verdünntes Serum benötigt. Mit dieser Methode können durch Zusatz von Dibucain auch genetisch bedingte Varianten der Serumcholinesterase erfaßt werden.

Die vergleichende Bestimmung der SChE-Aktivität durch beide Methoden wurde an insgesamt 722 Personen durchgeführt, die mit wenigen Ausnahmen Patienten waren. Die Blutentnahme erfolgte mit einer großkalibrigen Kanüle aus einer Armvene nach Stauung mit einer Manschette. Das Blut wurde 1/2 Stunde nach der Blutentnahme zehn Minuten lang bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und anschließend das überstehende Serum in ein neues Reagenzglas abgekippt. Hämolytisches Serum wurde nicht verwendet. Die Messung der SChE-Aktivität erfolgte gleichzeitig mit beiden Bestimmungsmethoden entweder am Tage der Blutentnahme oder nach Aufbewahrung im Kühlschrank bei $+ 4^{\circ} \text{C}$. spätestens am darauffolgenden Tage. Bei den chirurgischen Patienten wurde die SChE-Aktivität immer praeoperativ bestimmt.

Zur Erfassung der methodischen Meßfehler beider Methoden wurden von einigen Seren Mehrfachbestimmungen durchgeführt.

Im folgenden werden die Arbeitsweisen der beiden Methoden angegeben.

1. Spektrophotometrische Bestimmung der Serumcholinesterase-
===== Aktivität und der Dibucainzahl (DN) nach K A L O W =====
=====

a) Bestimmung der SchE-Aktivität

Als Substrat wird eine $2 \cdot 10^{-4}$ molare Benzoylcholinchlorid-
lösung verwendet, die bei $240 \text{ m}\mu$ das Absorptionsmaximum auf-
weist. Das Enzym liegt in dem mit 0,0667 molaren Phosphat-
puffer 1 : 100 verdünnten Serum vor.

Lösungsmittel: 0,0667 M Phosphatpuffer, p_H 7,4 (bei 25°)
Herstellung: 47,213 g $\text{Na H}_2 \text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$
und 9,078 g $\text{KH}_2 \text{PO}_4$ in 5 l
dest. Wasser

Lösungen: I. Substrat: $2 \cdot 10^{-4}$ Benzoylcholinchlorid
(= 10^{-4} M Benzoylcholin
= 2,437 mg Benzoylcholinchlorid
in 100 ml Lösungsmittel).

II. Enzym: Serum (1 : 100) verdünnt

Testansatz: 1,0 ml Lösungsmittel
2,0 ml Lösung I
+ 1,0 ml Lösung II
T = 20 - 26°

Der Test wird in Quarzküvetten (10 mm Lichtweg) bei $240 \text{ m}\mu$ im
Beckmann DU bei 20 - 26° durchgeführt.

Die Extinktion des Enzym (Serum)-Substrat-Gemisches wird gegen
die mit Phosphatpuffer 1 : 1 verdünnte Esteraselösung
(1 : 100 mit Phosphatpuffer verdünntes Serum) gemessen.

Die Serumaktivität ergibt sich aus der Extinktionsdifferenz
zwischen der 1. und 4. Minute. Da die Reaktion zu einer
Temperaturerhöhung führt, sollten temperierbare Küvettenhalter

) Diese Substratlösung darf nur 3 Tage lang zur Messung der
SchE-Aktivität verwendet werden unter der Voraussetzung, daß
die Lösung steril hergestellt und im Kühlschrank bei 4°C .
aufbewahrt wird.

verwendet werden. Reaktionen zwischen 20 und 26° können auf die Reaktion bei 26° bezogen werden durch die Formel:

$$\text{antilog } 0,0283 (t_2 - t_1) = V_2 : V_1$$

($t_2 = 26^\circ \text{ C}$; $t_1 = \text{Reaktionstemperatur}$; $V_2 = \Delta \text{ E bei } 26^\circ \text{ C}$;
 $V_1 = \Delta \text{ E bei } t_1$)

Die $\Delta \text{ E}$ -Werte bei 26° werden mit dem Faktor 1000 multipliziert; die SchE-Aktivität wird in Einheiten angegeben. Unter einer Einheit versteht man demnach: $1000 \cdot \Delta \text{ E} / 3 \text{ min.} / 26^\circ$ unter den oben beschriebenen Standardbedingungen.

b) Bestimmung der Dibucain-Nummer (DN)

Die im Text zur Differenzierung der Enzymvarianten angegebene Dibucainzahl wird im photometrischen Test mit Benzoylcholinchlorid (siehe 1 a) durch die Relation von Reaktion mit und ohne Zusatz von Dibucain bestimmt.

Lösungsmittel: 0,0667 M Phosphatpuffer
 p_H 7,4 (25° C)
(Zusammensetzung siehe 1 a)

Lösungen: I. Substrat: Benzoylcholinchlorid $2 \times 10^{-4} \text{ M}$
II. Inhibitor: Dibucain-Hydrochlorid $4 \times 10^{-5} \text{ M}$
III. Enzym: Serum 1 : 100 (verdünnt)

Testansatz für die Reaktion ohne Inhibitor (Dibucain)

1,0 ml Lösungsmittel +
1,0 ml Lösung I +
2,0 ml Lösung III

Testansatz für die Reaktion mit Inhibitor (Dibucain)

1,0 ml Lösung I +
1,0 ml Lösung II +
2,0 ml Lösung III

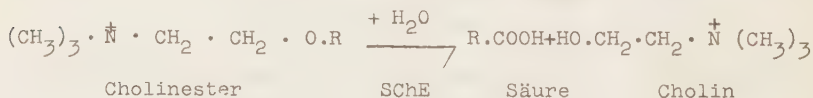
Bei beiden Ansätzen werden, wie unter 1a beschrieben, die Extinktionsdifferenzen ΔE zwischen der 1. und 4. Minute bei 240 m μ gemessen. Wichtig ist, daß beide Reaktionen bei gleicher Temperatur durchgeführt werden oder die Extinktionsdifferenz ΔE auf die gleiche Temperatur umgerechnet wird. Die Dibucain-Nummer (DN) ergibt sich durch Einsetzen der gefundenen Werte in die Gleichung:

$$DN = 100 \left(1 - \frac{\Delta E \text{ mit Dibucainzusatz}}{\Delta E \text{ ohne Dibucainzusatz}} \right)$$

2. Testpapiermethode (ACHOLEST)

Das Prinzip der Methode besteht in folgendem: Filterpapierstreifen sind mit einem Cholinester und einem Farbindikator (saures p_H gelb, neutrales bzw. alkalisches p_H blau) imprägniert.

Die in dem zu untersuchenden Serum enthaltene aktive Serumcholinesterase hydrolysiert das Substrat nach folgendem Schema:



Die Reaktion verläuft in quantitativer Abhängigkeit von der Fermentaktivität. Die freiwerdende Säure bewirkt eine Verschiebung des p_H nach der sauren Seite und damit einen allmählichen Farbumschlag des Indikators von blau über grüne Farbtöne bis gelb.

Das Zeitintervall (in Minuten) zwischen Kontakt des Serums mit dem Testpapier und dem Erreichen des grünen Farbtons des Vergleichspapiers, der einem bestimmten p_H-Wert entspricht, ist ein Maß für die Serumcholinesterase-Aktivität.

Für die Durchführung des Tests werden benötigt:

- ein halber ACHOLEST-Reagenzstreifen (2 x 1 cm),
- ein (jeder Packung beiliegender) Vergleichsfarbstreifen,

zwei Objektträger,
eine Mikropipette (0,05 ml),
eine Pinzette,
eine Schere und
eine Uhr.

Auf dem gut gereinigten Objektträger werden genau 0,05 ml Serum aufgebracht, das in der üblichen Weise gewonnen wird (Zitrat- und Oxalat-Plasma sind für den Test nicht geeignet).

Auf den Serumtropfen legt man mit einer Pinzette den halben ACHOLEST-Streifen, der sofort eine dunkelblaugrüne Farbe annimmt. Gleichzeitig wird die Uhrzeit abgelesen und Notiert (Beginn des Tests). Es empfiehlt sich, auf den ersten Objektträger einen zweiten zu legen und diesen mehrmals leicht anzudrücken, damit die Flüssigkeit gleichmäßig verteilt wird und Luftbläschen beseitigt werden.

Mit dem Fortschreiten der enzymatischen Reaktion hellt sich der Teststreifen allmählich zu einem grünen Farbton auf. Sobald dieser mit dem des Vergleichsstreifens übereinstimmt, ist der Test beendet. Die Uhrzeit muß wieder notiert werden.

Da sich unter Umständen die Eigenfarbe des Serums, z.B. eines ikterischen, störend bemerkbar machen kann, wurde die Methode später in Bezug auf den Farbvergleichsstreifen modifiziert.

Den Packungen liegt jetzt kein gedruckter Farbvergleichsstreifen mehr bei, sondern in einem besonderen Röhrchen die gleiche Anzahl besonders präpapierter Vergleichsstreifen. Diese sind nicht mit dem Substrat, sondern neben dem Farbindikator mit einer Puffersubstanz imprägniert. Dieser Vergleichsstreifen wird in der gleichen Weise mit 0,05 ml Serum benetzt und nimmt bald darauf die grüne Vergleichsfarbe an. Dieser Farbton ändert sich im Verlauf der Reaktion nicht. Man muß darauf achten, daß sich

die beiden Serumtropfen auf dem Objektträger nicht vermischen, trägt also den einen Tropfen auf die linke und den anderen auf die rechte Seite auf. Im übrigen verfährt man wie oben geschildert.

Auf Grund von Vergleichsuntersuchungen werden von der Herstellerfirma folgende Zeitabschnitte angegeben, die einer erhöhten, normalen, erniedrigten oder stark erniedrigten Serumcholinesterase-Aktivität entsprechen:

<u>Minuten</u>	<u>Aktivität der Serumcholinesterase:</u>
unter 5	erhöht
von 6 - 18	normal
von 19 - 35	erniedrigt
über 35	stark erniedrigt

Bei der Durchführung des Tests ist folgendes zu beachten: Das Serum soll nicht hämolytisch sein. Es soll möglichst bald von dem Blutkuchen abpipettiert oder abzentrifugiert werden.

Vergleichsuntersuchungen und Wiederholungsbestimmungen sollen möglichst von dem gleichen Untersucher durchgeführt werden. Ebenso ist es wichtig, auf eine stets gleichbleibende Lichtquelle zu achten. Die Raumtemperatur soll 19 - 22° C betragen, da in diesem Temperaturbereich nach RICHTERICH die geringsten Abweichungen zu beobachten sind.

- - - - -

D. E R G E B N I S S E

1. Der methodische Meßfehler:

Zur Bestimmung der methodischen Meßfehler der beiden Methoden wurden von einem Serum jeweils 20 Messungen gleichzeitig durchgeführt. Die Messungen wurden von einem Serum vorgenommen, dessen SchE-Aktivität im Grenzbereich zwischen normaler und pathologisch erniedrigter lag, da dieser Bereich von besonderem Interesse für die Klinik ist.

Es ergaben sich folgende Werte:

- a) für die spektrophotometrische Methode nach KALOW betrugen der Mittelwert der 20 Messungen

$$\bar{x} = 78,0 \triangleq E \cdot 1000 \text{ bei } 26^{\circ},$$

die Standardabweichung

$$s_x = \pm 3,25 \triangleq E \cdot 1000 \text{ bei } 26^{\circ},$$

die doppelte Standardabweichung

$$2 s_x = \pm 6,50 \triangleq E \cdot 1000 \text{ bei } 26^{\circ}$$

und die Fehlerbreite x_l und x_r innerhalb der zweiseitigen 95%igen Vertrauensgrenzen $\pm 6,36 \triangleq E \cdot 1000 \text{ bei } 26^{\circ}$;

- b) für den ACHOLEST-Testpapierstreifen waren

der Mittelwert der 20 Messungen

$$\bar{y} = 19,5 \text{ Minuten},$$

die Standardabweichung

$$s_y = \pm 1,02 \text{ Minuten},$$

die doppelte Standardabweichung

$$2 s_y = \pm 2,04 \text{ Minuten}$$

und die Fehlerbreite y_l und y_r innerhalb der zweiseitigen 95%igen Vertrauensgrenzen $\pm 1,99 \text{ Minuten. *)}$

Daraus ergeben sich die prozentualen methodischen Meßfehler innerhalb der zweiseitigen 95%igen Vertrauensgrenzen für die spektrophotometrische Methode nach KALOW von 8,15 % und für die Testpapiermethode von 10,20 %.

*) Die spektrophotometrische Methode nach KALOW wird immer mit x, die ACHOLEST-Testpapiermethode mit y bezeichnet.

Im weiteren Verlauf wurden von einzelnen Seren in Stichproben gleichzeitige Mehrfachbestimmungen durchgeführt; bei beiden Methoden hielten sich die gemessenen Schwankungen innerhalb der oben angegebenen prozentualen Grenzen.

2. Untersuchungsgut:

Bei 722 Personen wurde die SChE-Aktivität jeweils mit dem von KALOW standardisierten spektrophotometrischen Test und mit dem ACHOLEST-Testpapier bestimmt.

Nach KALOW werden auf Grund der spezifischen Hemmung der Serumcholinesterase durch Dibucain mehrere genetisch bedingte Varianten unterschieden; sie werden in die drei Gruppen des atypischen, intermediären und normalen Gentypus eingeteilt und durch die Dibucain-Zahl (DN) charakterisiert. Zusätzlich wurde noch eine vierte Gruppe (DN 70 - 74) die zwischen dem intermediären und normalen Gentypus liegt, berücksichtigt. Die Tabelle 1 zeigt die für die einzelnen Gruppen der genetisch bedingten Varianten zugeordneten Dibucain-Zahlen (DN) und die Anzahl und prozentuale Aufteilung in unserem Untersuchungsgut.

Tabelle 1

DN	20 - 35	50 - 69	70 - 74	75 - 100	
	atypisch	intermediär		normal	gesamt
Zahl der Fälle:	8	13	15	686	722
in Prozent:	1,11	1,80	2,07	95,02	100

Für die vergleichende Untersuchung beider Bestimmungsmethoden wurden nur die 686 Personen mit der Dibucain-Zahl von 75 bis 100 berücksichtigt, da die ACHOLEST-Testpapiermethode eine Differenzierung der genetisch bedingten Varianten nicht erlaubt. Auf die Beziehung der genetisch bedingten Varianten zum ACHOLEST-Test wird später eingegangen werden.

In Abbildung 1 sind die 686 gleichzeitigen Doppelbestimmungen der SchE-Aktivität in ein Koordinatensystem eingetragen, auf der Abszisse die Werte der spektrophotometrischen Methode nach KALOW in $\Delta E \cdot 1000$ bei 26°C und auf der Ordinate die ACHOLEST-Werte in Minuten bei 19° bis 22°C . Der Gesamtmittelwert der 686 Bestimmungen der SchE-Aktivität beträgt bei der Methode nach KALOW $\bar{x} = 99,45$, die Standardabweichung $s_x = \pm 37,34$ die Standardabweichung des Gesamtmittelwertes $s_{\bar{x}} = \pm 1,42$. Die entsprechenden Werte für die Testpapiermethode sind: $\bar{y} = 17,60$ $s_y = \pm 10,29$ und $s_{\bar{y}} = \pm 0,39$.

3. Die Beziehung der mit beiden Bestimmungsmethoden gemessenen Werte der SchE-Aktivität bei dem normalen Gentypus (DN 75 - 100):

a) Die Hyperbelfunktion.

Die in dem Koordinatensystem der Abbildung 1 eingetragenen gemeinsamen Meßergebnisse der SchE-Aktivität gruppieren sich nicht um eine Gerade, sondern scheinen sich um eine Hyperbel symmetrisch zu verteilen. Zum Beweis sollte die Funktion $y = c \cdot x^{-1}$ gefunden werden. Die Umformung der Gleichung $y = c \cdot x^{-1}$ in das dekadisch-logarithmische System ergibt die lineare Funktion $\log y = -\log x + \log c$.

In dem beidachsig dekadisch-logarithmischen Koordinatensystem wurden gemeinsame Mittelwertspunkte ($\log \bar{x}_1 / \log \bar{y}_1$) von 20 bis 160 $\Delta E \cdot 1000$ bei 26° mit den dazugehörigen ACHOLEST-Werten eingetragen (Abbildung 2). Diese Punkte gruppieren sich entlang der Geraden $\log y = -\log 0,9867 x + \log 3,1467$. Die Potenzierung in das dekadische System ergibt die Gleichung $y = 1402 x^{-0,9867}$. Die Größe des Exponenten nähert sich bis auf eine Differenz von $x^{-0,013}$ der Gleichung $y = c \cdot x^{-1}$. Die Hyperbelfunktion gibt somit annäherungsweise die direkte Beziehung beider Methoden zueinander an.

b) Die lineare Funktion.

(Die einzelnen Regressionsgeraden und ihre Berechnung)

Bei den beiden Methoden liegen die Bestimmungswerte als Ausdruck der Enzymaktivität im umgekehrten Verhältnis vor, d.h. bei fallender SchE-Aktivität strebt bei der spektrophotometrischen Methode der Wert gegen Null, bei der Testpapierbestimmung gegen Unendlich. Um zwei in ihrem Untersuchungsmodus verschiedene Methoden miteinander vergleichen zu können, sollten die Werte beider Methoden, die Ausdruck der Enzymaktivität im Serum sind, in gleicher Weise gegen Null bzw. Unendlich streben.

Es wurden daher die 686 ACHOLEST-Werte in ihrem reziproken Verhältnis (um gerade Zahlen zu erhalten mit 1000 multipliziert) in einem Koordinatensystem mit den nach KALOW gemessenen Werten auf der Abszisse und den reziproken ACHOLEST-Werten ($\frac{1}{m_{\min}} \cdot 1000$) auf der Ordinate aufgetragen (Abbildung 3). Schon aus dieser Darstellung ist erkennbar, daß sich die Punkte als Ausdruck unserer Bestimmungswerte um eine Gerade in der Form der linearen Funktion $y = bx + a$ verteilen müssen.

Zur Berechnung dieser linearen Funktion wurde die Regression 2.Art für die zweidimensionale Normalverteilung und ihr Korrelationskoeffizient r verwendet. Die beiden Variablen x und y sind dann durch die Gleichungen

$$Y = \bar{y} + b_{xy} (x - \bar{x}) \quad a)$$

$$X = \bar{x} + b_{yx} (y - \bar{y}) \quad b)$$

charakterisiert. Es wird dann von x auf y nach a) und von y auf x nach b) geschlossen.

Der Korrelationskoeffizient r ist ein Maß für die stochastische Abhängigkeit der beiden Variablen x und y . Sein Wert kann zwischen -1 und $+1$ variieren. Beträgt er -1 oder $+1$, so sind die beiden Veränderlichen mathematisch total voneinander abhängig und die beiden Regressionsgeraden Y und X fallen zusammen (Geigy Tabelle S.170. 5-9).

In diesem Fall ist dann die Beziehung der beiden Veränderlichen x und y durch die eine Regressionsgerade

$$Y = b_{yx} \cdot x + a_{yx} \quad c)$$

ausgedrückt und es kann dann sowohl von x auf y als auch von y auf x auf Grund von c) geschlossen werden.

Im folgenden wird deshalb nur die Regressionsgerade c) angegeben, wenn der Korrelationskoeffizient r zwischen $+ 0,9$ und $+ 1$ liegt.

Als Punkte (x/y) zur Schätzung der einzelnen Regressionsgeraden Y dienten gemeinsame Mittelwertspunkte ($\bar{x}_1 / \bar{y}_1$). Diese gemeinsamen Mittelwertspunkte wurden durch Gruppierung der unabhängigen Veränderlichen x in Spalten (k) mit den innerhalb dieser Spalten liegenden Werte (Beobachtungen m) der abhängigen Veränderlichen y ermittelt. In Tabelle 2 (am Schluß des Textteiles) sind die gemeinsamen Mittelpunktswerte angegeben, aus denen die Regressionsgeraden errechnet wurden. Die Regressionsgeraden gelten nur für eine normale bzw. symmetrische Verteilung. Deshalb wurde geprüft, ob die Einzelwerte (x_1/y_1) symmetrisch um die jeweiligen Mittelpunktswerte ($\bar{x}_1 / \bar{y}_1$) verteilt sind. Aus der Tabelle 3 a und 3 b ist ersichtlich, daß für die Werte der Messung nach KALOW in dem Bereich von 137 - 65 ($\Delta E \cdot 1000$ bei 26°) und für die Werte der ACHOLEST-Bestimmung von 10 - 32 (min.) innerhalb der zweiseitigen 95%igen Vertrauensgrenzen eine symmetrische Verteilung besteht.

Die Werte zur Prüfung der symmetrischen Verteilung wurden der Geigy-Tabelle S.104 bis 105 entnommen. Der Medianwert ($Q 0,5$) wurde auf dem in der Geigy-Tabelle S.161 beschriebenen Weg bestimmt.

Tab. 3 a Prüfung auf Symmetrie, die Mediane und ihre Signifikanzgrenzen einzelner Werte nach Kalow

	I	II	III	IV	V
Werte nach Kalow ($\bar{x}_1$)	137	118	96	77	65
Anzahl (m_1)-gruppierten Einzelwerte (x_1)	58	47	35	26	12
95%ige zweiseitige Vertrauensgrenzen für Np ($p = 0,5$) $2\alpha = 0,05$	130-139	108-119	86-101	64-83	53-71
Q (0,5) Median- oder Zentralwert)	134	115	96	80	64
Forderung: Mittelwert=Medianwert innerhalb der 95%igen zweiseitigen Vertrauensgrenze	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt
Standardabweichung um den Mittelwert ($\bar{x}_1$) $= s_{x_1}$	$\pm 24,05$	$\pm 20,07$	$\pm 15,66$	$\pm 18,41$	$\pm 12,66$
Zweiseitige Signifikanzschranken $2 P = 2\alpha$ ($\alpha = 0,025$) für Q(0,5)	$\pm 47,14$	$\pm 38,93$	$\pm 30,69$	$\pm 36,08$	$\pm 24,81$
x_1	87	76	65	44	39
x_r	181	154	127	116	89
Methodischer Meßfehler Δc (8,15 %)	$\pm 11,17$	$\pm 9,62$	$\pm 7,82$	$\pm 6,28$	$\pm 5,30$
Zweiseitige Signifikanzschranken $2 P = 2\alpha$ ($\alpha = 0,025$) für Q (0,5) unter Berücksichtigung des methodischen Meßfehlers	$\pm 25,24$	$\pm 20,07$	$\pm 15,36$	$\pm 23,77$	$\pm 14,42$
x_1	109	95	81	57	50
x_r	159	135	111	104	78

Tab. 3 b Prüfung auf Symmetrie, die Mediane und ihre
Signifikanzgrenzen einzelner Acholestwerte

	I	II	III	IV
Acholest-Werte ($\bar{y}_1$)	32	20	16	10
Anzahl (m_i) der gruppierten Einzelwerte (y_1)	23	63	59	35
95%ige zweiseitige Vertrauensgrenzen für Np ($p = 0,5$) 2 4 0,05	25-38	17-21	15-17	9-11
Q (0,5) Median- oder Zentralwert)	34	20	16	10
Forderung: Mittelwert=Medianwert innerhalb der 95%igen zweiseitigen Vertrauensgrenze	erfüllt	erfüllt	erfüllt	erfüllt
Standardabweichung um den Mittelwert ($\bar{y}_1$) = s_{y_1}	$\pm 8,46$	$\pm 4,69$	$\pm 3,29$	$\pm 3,29$
Zweiseitige Signifikanzschränken $2 P = 2 \alpha$ ($\alpha = 0,025$) für Q (0,5)	$\pm 16,9$	$\pm 9,2$	$\pm 6,5$	$\pm 4,3$
y_1	17	11	9,5	6
y_r	51	29	22,5	14
Methodischer Meßfehler Δc (10,20 %)	$\pm 3,26$	$\pm 2,04$	$\pm 1,63$	$\pm 1,02$
Zweiseitige Signifikanzschränken $2 P = 2 \alpha$ ($\alpha = 0,025$) für Q (0,5) unter Berücksichtigung des methodischen Meßfehlers	$\pm 10,19$	$\pm 5,19$	$\pm 3,25$	$\pm 2,27$
y_1	24	15	13	8
y_r	44	25	19	12

Im Laufe unserer Untersuchungszeit wurde der ACHOLEST-Test von der Herstellerfirma modifiziert (Näheres siehe im methodischen Teil). Aus diesem Grunde wurden getrennt diejenigen Regressionsgeraden und ihre Korrelationskoeffizienten bestimmt, die die Beziehung der Methode nach KALOW einmal zum alten ACHOLEST (A) und zweitens zum neuen ACHOLEST (B) darstellen.

Mit dem alten ACHOLEST-Testpapier (A) wurden 496 und mit dem neuen (B) 190 Doppelbestimmungen der SchE-Aktivität gleichzeitig mit der Methode nach KALOW durchgeführt. Das lineare Verhältnis der reziproken Werte beider ACHOLEST-Methoden (A und B) zu den Bestimmungswerten der spektrophotometrischen Methode nach KALOW zeigen die Regressionsgeraden

$$Y = 0,623 x + 5,09 \quad (\text{II}), r = 0,937 \text{ für (A) und}$$

$$Y = 0,086 x - 2,71 \quad (\text{I}), r = 0,994 \text{ für (B)}$$

(Abbildung 4 und 5).

Für sämtliche 686 Doppelbestimmungen gilt die Regressionsgerade

$$Y = 0,654 x + 1,52 \quad (\text{III}), r = 0,997 \text{ für (A + B),}$$

(Abbildung 6).

Wie in Abbildung 7 zu sehen ist, haben die Regressionsgeraden I, II und III einen gemeinsamen Schnittpunkt. Die durchschnittliche Mittelwertstreuung der Regressionsgeraden III beträgt $(s_{\bar{y}_1}) \pm 2,1 \left(\frac{1}{\text{min.}} \cdot 1000 \right)$. In dem Bereich $\Delta E \cdot 1000 / \frac{1}{\text{min.}} \cdot 1000$ von 50/34 und 190/126 liegen die Regressionsgeraden I und II innerhalb der Mittelwertstreuung der Regressionsgeraden III. Auf Grund dieser Ergebnisse besteht kein grundsätzlicher Unterschied zwischen der alten und modifizierten ACHOLEST-Methode; für unsere Beurteilung können daher alle 686 Werte gemeinsam betrachtet werden.

Die Regressionsgeraden I, II und III sind Ausdruck der Beziehung des ACHOLEST-Testpapiers zu der spektrophotometrischen Bestimmung der SChE-Aktivität. Die umgekehrte Beziehung beinhaltet die Regressionsgerade

$$X = 1,148 y + 18,95 \quad r = 0,980$$

$$Y = 0,839 x - 13,67 \quad (IV)$$

(Abbildung 8)

Diese wurde ebenfalls aus gemeinsamen Mittelwertspunkten ($\bar{x}_1 / \bar{y}_1$) berechnet, die sich durch Gruppierung der einzelnen reziproken ACHOLEST-Werte ($\frac{1}{\text{min}} \cdot 1000$) in Spalten mit den innerhalb dieser Spalten liegenden Werte der spektrophotometrischen Methode ergaben (Abbildung 8).

In den Abbildungen 8 und 9 ist aus Gründen der einheitlichen Darstellung nur die Regressionsgerade $Y = 0,839 x - 13,67$ (IV) eingezeichnet.

c. Die gemeinsamen Übergangswerte der beiden Methoden von normaler zu pathologisch erniedrigter SChE-Aktivität.

Es erschien uns wichtig, einen für beide Methoden gemeinsamen Wert als Grenze zwischen dem normalen und pathologisch erniedrigten Bereich der SChE-Aktivität zu ermitteln, da diese Grenzwerte für eine vergleichende Untersuchung in der Klinik unerlässlich sind.

Dieser Übergangswert liegt in dem Schnittpunkt der Regressionsgeraden III und IV (Abbildung 9). Der Schnittpunkt hat die Ordinaten $x = 82,15$ ($\Delta E \cdot 1000$ bei 26°) und $y = 55,25$ ($\frac{1}{\text{min}} \cdot 1000$). Somit beträgt der Übergangswert in unserem Untersuchungsgut für die spektrophotometrische Methode nach KALOW 82 ($\Delta E \cdot 1000$ bei 26°) und für den ACHOLEST-Testpapierstreifen 18 (min. bei $19 - 22^\circ$). Diese beiden Werte müssen als die Übergangswerte von normaler zu pathologisch erniedrigter SChE-Aktivität für alle weiteren klinischen Vergleichsuntersuchungen mit beiden Methoden Anwendung finden.

Die Übergangswerte sind für die Wahrscheinlichkeit (Prob) gleich 0,5 angegeben, d.h. in 50 % sind bei diesen Werten eine normale bzw. pathologisch erniedrigte SChE-Aktivität anzunehmen.

d) Die Streuung der SChE-Aktivität um die Übergangswerte von normaler zu pathologisch erniedrigter Enzymaktivität bei beiden Methoden.

Für die Berechnung der Streuung der Meßergebnisse beider Methoden lag die Hypothese zugrunde, daß die spektrophotometrische Methode und die ACHOLEST-Testpapiermethode für die Messung der SChE-Aktivität gleich zuverlässig sind. Diese Hypothese stützt sich auf die sehr gute Korrelation beider Methoden, da der Korrelationskoeffizient für alle Regressionsgeraden praktisch 1 ist. Die Streuung der Meßergebnisse ist bei beiden Methoden relativ groß. Bei der Methode nach KALOW wird die Streuung mit abnehmen der SChE-Aktivität kleiner, beim ACHOLEST-Testpapierstreifen größer.

Dieses Verhalten zeigen die Abb. 10 a für die spektrophotometrische Methode und die Abb. 10 b für das ACHOLEST-Testpapier. Zur Darstellung der Streuung der gemessenen ACHOLEST-Werte in Minuten wurden in ein Koordinatensystem die reziproken Werte der spektrophotometrischen Methode ($\frac{1}{\Delta_E}$) auf der Abszisse und die Meßergebnisse des ACHOLEST-Testes in Minuten auf der Ordinate eingetragen (Abbildung 10 b).

Die in Abbildung 10 b eingezeichnete Regressionsgerade

$$Y = 1,431 x + 0,96 \quad (V) \quad (r = 0,963)$$

wurde aus den entsprechenden Mittelpunktwerten der Regressionsgeraden III ermittelt. In den Tabellen 3 a und 3 b (Seite 18 u.19) sind für beide Methoden die Standardabweichungen und die zweiseitigen 95%igen Vertrauensgrenzen ohne und mit Berücksichtigung des methodischen Meßfehlers einzelner Werte, die auf der Regressionsgeraden IV bzw. V liegen, angegeben. Wird der methodische Meßfehler durch Mehrfachbestimmungen eliminiert, so ergeben sich folgende zweiseitigen 95%igen Signifikanzschranken ($2 P = 2 \alpha, \alpha = 0,025$)

- a) für die spektrophotometrische Methode in dem Bereich von 137 bis 65 $\Delta_E \cdot 1000$ bei 26°

$$x_1 x_r = \bar{x} (0,105 \cdot K + 9,5) \quad (K = \text{gemessene Werte der spektrophotometrischen Methode, die auf der Regressionsgeraden IV liegen})$$

b) Für die Testpapiermethode ACHOLEST in dem Bereich von 10 und 32 Minuten

$$y_1 y_r = \bar{x} (0,340 \cdot A - 1,57) \quad (A = \text{gemessene Minuten des ACHOLEST-Testes auf der Regressionsgeraden V})$$

Von besonderem Interesse sind die zu erwartenden Schwankungen beim Übergang von normaler zu pathologisch erniedrigter SchE-Aktivität, die abhängig sind vom methodischen Meßfehler und der physiologischen Schwankungsbreite der Serumcholinesterase in der Bevölkerung. Wird der methodische Meßfehler durch Mehrfachbestimmungen eliminiert, ergeben sich Schwankungen der SchE-Aktivität in unserem Untersuchungsgut beim Übergang von normaler zu pathologisch erniedrigter Enzymaktivität bei $82 \Delta E \cdot 1000$ bis zu $\bar{x} 18,1$ und bei 18 Minuten bis zu $\bar{x} 4,55$. Sicher pathologisch erniedrigte Werte sind demnach bei der spektrophotometrischen Methode unter $64 \Delta E \cdot 1000$ bei 26° und beim ACHOLEST-Testpapier über 23 Minuten anzunehmen. In dem Intervall bei der Methode nach KALOW von 100 bis 64 und beim Testpapier ACHOLEST von 14 bis 23 besteht eine relative Unsicherheit in der Beurteilung einer pathologisch erniedrigten SchE-Aktivität.

Im Schrifttum werden die Werte der spektrophotometrischen Methode meist für 37° angegeben. Die entsprechenden Werte sind dann: Übergangswert 140 (Einheiten), die Streuung um diesen Übergangswert $\bar{x} 31,5$; eine sichere pathologische erniedrigte SchE-Aktivität ist unter 111,5 Einheiten anzunehmen.

Die Schwankungsbreite der SchE beträgt in unserem untersuchten Personenkreis bei der SchE-Bestimmung nach KALOW 22 % und bei dem Testpapier ACHOLEST 25 %.

4. Die Beziehung der mit beiden Methoden gemessenen Werte der SChE-Aktivität bei den genetisch bedingten Varianten.

Die genetisch bedingten SChE-Varianten müssen, wie schon eingangs erwähnt, gesondert untersucht werden, da der ACHOLEST-Test eine Differenzierung nicht ermöglicht. Die Verteilung der genetisch bedingten Varianten zeigt Abbildung 11. Aus dieser Abbildung ist zu ersehen, daß sich die genetisch bedingten Varianten nicht symmetrisch um die Regressionsgerade III verteilen; die Werte der atypischen Serumcholinesterase liegen zu 100 %, der intermediären zu 69,2 % und die mit der Dibucainzahl von 70 - 74 zu 73,4 % unterhalb der Regressionsgeraden III. Die geringe Anzahl der erfaßten genetisch bedingten Varianten mit der vorhandenen Streuung läßt eine Korrelation auf Grund statistischer Berechnungen insbesondere der Intermediären und der mit der Dibucainzahl 70 bis 74 nicht zu. Bei der einheitlichen Verteilung und Tendenz der atypischen Serumcholinesterase erschien es uns berechtigt, eine orientierende Regressionsgerade $Y = 0,463 x + 3,52$ (VI) ($r = 0,598$) aufzustellen (Abbildung 12). Die Regressionsgerade VI liegt außerhalb der unteren einseitigen 90%igen Signifikanzschranke der Regressionsgeraden III. Somit besteht für den normalen und atypischen Gentypus der Serumcholinesterase ein deutlicher Unterschied in dem Verhältnis der beiden Methoden zueinander.

In der Tabelle 4 sind sämtliche Regressionsgeraden (I bis VI) und ihre Korrelationskoeffizienten noch einmal zusammengestellt.

Zusammenstellung der Regressionsgeraden, der Regressionskoeffizienten und der Korrelationskoeffizienten

Abb.	Spalten (k)		Mittelwerte der Beobachtung (m) innerhalb d. Spalten		Regressionskoeffizient (b _{yx})	Regressionsgeraden Y = b _{yx} x + a _{yx}	Korrelationskoeffizient r _{yx}
	Methode	Dimension	Ordinate	Dimension			
4	Kalow	$\Delta E 1000$ bei 260	x-Achse	alt Acho- lest (A)	$\frac{1}{\min}$ 1000 y-Achse	Y = 0,623 x + 5,09 (II)	0,937
5	Kalow	$\Delta E 1000$ bei 260	x-Achse	neu Acho- lest (B)	$\frac{1}{\min}$ 1000 y-Achse	Y = 0,686 x - 2,71 (I)	0,994
6	Kalow	$\Delta E 1000$ bei 260	x-Achse	ges. Acho- lest A + B	$\frac{1}{\min}$ 1000 y-Achse	Y = 0,654 x + 1,52 (III)	0,997
8	ges. Acho- lest A + B	$\frac{1}{\min}$ 1000	y-Achse		$\Delta E 1000$ bei 260 x-Achse	X = 1,148 y + 18,15 Y = 0,839 x - 13,67 (IV)	0,980
9	Kalow	$\Delta E 1000$ bei 260	x-Achse	ges. Acho- lest	$\frac{1}{\min}$ 1000 y-Achse	Y = 0,654 x + 1,52 (III) Y = 0,839 x - 13,67 (IV)	0,997 0,980
10 b	Kalow	ΔE	x-Achse	Acho- lest	min. y-Achse	Y = 1,431 x + 0,96 (V)	0,963
13	Kalow DN 75-100 20-35	$\Delta E 1000$ bei 260	x-Achse	Acho- lest	$\frac{1}{\min}$ 1000 y-Achse	Y = 0,654 x + 1,52 (III) Y = 0,463 x + 3,52 (VI)	0,997 0,598

E. Diskussion

In der Literatur finden sich nur wenige Angaben über die physiologische Schwankungsbreite der SchE-Aktivität. KALOW gab diese mit dem Substrat Benzoylcholin von 110 bis 300 Einheiten bei 37° C an. Diese Angaben stimmen in Bezug auf die untere Grenze normaler SchE-Aktivität mit unseren Ergebnissen überein. Für den ACHOLEST-Test sind von SAILER und BRAUNSTEINER normale Werte bis 18 Minuten, von RICHTERICH von 5 - 19 Minuten und von CHURCHILL-DAVIDSON u. GRIFFITHS von 12 bis 20 Minuten angegeben worden. Die individuelle Schwankungsbreite der Serumcholinesterase ist bei diesen angegebenen Werten für die ACHOLEST-Testpapiermethode nicht eindeutig berücksichtigt.

Die wenigen Angaben sind auch noch dadurch erschwert, daß kaum Gegenüberstellungen verschiedener Methoden erfolgten und somit Vergleiche sowohl im normalen physiologischen als auch im pathologischen Bereich fehlen. Von den Gegenüberstellungen zweier Bestimmungsmethoden werden einige, nämlich die Methoden nach AMMON, MICHEL und GLICK, die die Autoren (CHURCHILL-DAVIDSON u. GRIFFITHS; JABSA et al.; LANG et al.; RICHTERICH; SAILER u. BRAUNSTEINER; WANG) jeweils mit der einfachen ACHOLEST-Testpapiermethode vergleichen, angeführt.

JABSA et al. stellten die SchE-Aktivität, gemessen mit dem ACHOLEST-Test, der manometrischen Methode nach AMMON, bei der 0,1 ml Serum bei 37° und als Substrat Acetylcholinchlorid von $2,2 \cdot 10^{-2}$ M verwendet wird. Die Autoren kommen unter der Annahme, der Fehler der manometrischen Methode sei praktisch gleich Null, zu folgenden Ergebnissen: "Die Fehlerbreite der Testpapiermethode ist relativ groß. Dieser Nachteil fällt bei SchE-Aktivitäten über 100 μ l CO₂/20 min./0,1 ml Serum, also im Bereich normaler Aktivität und Acholestwerten bis zu 17 min. weniger ins Gewicht. Im Bereich von 40 bis 80 μ l CO₂/20 min./0,1 ml Serum, dem z.B. für die Indikationsstellung chirurgischer Eingriffe bei Lebererkrankungen eine besondere Bedeutung zu-

kommt, halten es die Autoren allerdings für notwendig, die orientierende Angabe der Testpapier-Methode durch eine manometrische Bestimmung zu kontrollieren."

Auch die Methoden nach MICHEL und GLICK verwenden als Substrat Acetylcholin. Sowohl LANG et al. mit der potentiometrischen Methode nach GLICK, als auch CHURCHILL-DAVIDSON et al. mit der titrimetrischen Methode geben in den wesentlichen Bereichen eine für klinische Belange ausreichende Übereinstimmung der Werte an.

Ein Vergleich - ACHOLEST-Test zu den verschiedenen Methoden, wie sie die obengenannten Autoren vorgenommen haben - mit Methoden, die Acetylcholin als Substrat benutzen, muß mit Fehlern behaftet sein, besonders wenn eine geringe Hämolyse vorliegt, d.h. wenn aus den Erythrozyten zusätzlich Acetylcholinesterase frei wird. So sind auch in der Gegenüberstellung von LANG et al die Differenzen bis zu 15 % bei stark pathologisch erniedrigter SChE-Aktivität erklärbar, denn einmal kann mit der Methode nach GLICK (Substrat Acetylcholin) auch die Acetylcholinesterase erfaßt werden und zum anderen wird mit dem ACHOLEST-Testpapier mit größter Wahrscheinlichkeit nur die SChE bestimmt. Auch soll nach PILZ und HÖRLEIN im Serum eine Acetylcholinesterase vorliegen, die nach elektrophoretischer Auftrennung (Stärkegel) zwischen der Albumin- und α_1 - Globulin-Fraktionen lokalisiert wurde.

In der Gegenüberstellung der beiden Methoden muß als wesentlichster Unterschied hervorgehoben werden, daß bei der photometrischen Methode nach KALOW mit genau definierten und meßbaren Größen, beim ACHOLEST-Test aber mit unbekanntem Substrat und unbekannter Substratmenge die SChE-Aktivität gemessen wird.

Trotz dieser Vorbehalte konnten wir in unserer Gegenüberstellung und statistischen Berechnung an 686 Paralleluntersuchungen Ergebnisse erzielen, die den aus der Literatur bekannten (GOLL; JABSA et al.; LANG et al.; RICHTERICH; WANG) nicht ganz entsprechen. Unsere errechneten Regressionsgeraden und Korrelationskoeffizienten zeigen eine sehr gute Übereinstimmung der Bestimmung der

SChE-Aktivität in dem normalen und pathologisch erniedrigten Bereich mit den beiden Methoden. Die Festsetzung des Übergangswertes von normaler zu pathologisch erniedrigter SChE-Aktivität, sowohl bei der Methode nach KALOW als auch bei der Testpapier-Methode, wurde bisher mit statistischen Berechnungen und der in diesem Bereich liegenden Streuungen nicht durchgeführt. Diese Übergangswerte müssen für alle weiteren klinischen Vergleichsuntersuchungen berücksichtigt werden. Dabei sollte besonders beachtet werden, daß infolge der großen individuellen Schwankungsbreite der Serumcholinesterase in der Bevölkerung in einem relativ großen Meßbereich bei beiden Methoden eine Unsicherheit in der Beurteilung einer pathologisch erniedrigten SChE-Aktivität besteht.

Die genetisch bedingten Varianten nach KALOW verlangten aus den erwähnten methodischen Möglichkeiten des ACHOLEST-Testes einen getrennten Vergleich der SChE-Varianten zum entsprechenden Wert des ACHOLEST-Testes. Diese in der Tabelle 1 aufgeführten 21 Fälle entsprechen, insbesondere wenn die 8 atypischen SChE-Varianten mit dem relativ hohen Prozentsatz von 1,11 berücksichtigt werden, nicht den in der Weltliteratur angegebenen Daten; denn zu unserem Untersuchungskollektiv kamen zusätzlich zwei Familien mit mehreren atypischen und indermediären Serumcholinesterasen. (DOENICKE et al. 1962, STEINBEREITHNER et al. 1964). Somit entspricht die prozentuale Verteilung der genetisch bedingten Varianten in Tabelle 1 nicht einer repräsentativen Prozentangabe einer normalen Population. KALOW gibt für die Bevölkerung in Kanada für die atypische Cholinesterase ein Verhältnis von 1 : 2800 an.

Im Sinne der statistischen Normalverteilung entfallen dann auf unsere 704 Paralleluntersuchungen (abzüglich der 18 SChE-Doppelbestimmungen in obengenannten beiden Familien) eine Person mit atypischer und 6 Personen mit intermediärer SChE, in Prozenten sind das 0,141 für die atypische und 0,84 für die intermediäre Serumcholinesterase-Varianten. Abbildung 11 zeigt, daß sich unter dem Vorbehalt der geringen Anzahl der Bestimmungen die

entsprechenden Werte nicht gleichmäßig um die Regressionsgerade III (normaler Gentypus) verteilen. Die aus den gemessenen Werten der atypischen SChE errechnete Regressionsgerade VI ist signifikant gegen die Regressionsgerade III verschieden (Abbildung 12). Bei der atypischen SChE ist die parallel mit dem ACHOLEST-Testpapier gemessene Aktivität deutlich tiefer gegenüber dem Normaltypus.

F. Zusammenfassung :

Zur Überprüfung und Bewertung zweier Bestimmungsmethoden wurde die Serumcholinesteraseaktivität bei 722 Personen in Paralleluntersuchungen spektrophotometrisch nach KALOW und mit dem ACHOLEST-Testpapier bestimmt.

Die Doppelbestimmungen der SChE-Aktivität mit jeweils zwei in ihrer Methodik verschiedenen Verfahren sollte aufzeigen, ob ein direkter Zusammenhang zu finden ist. Folgende Ergebnisse wurden auf Grund statistischer Berechnungen erzielt:

1. Zwischen den Methoden nach KALOW und ACHOLEST bestehen im normalen und pathologisch erniedrigten Bereich der SChE eine stetige Funktion und eine sehr gute Korrelation.
2. Der methodische Meßfehler ist in unserem Untersuchungsgut bei der spektrophotometrischen Methode nach KALOW $\pm 8,15 \%$ und beim ACHOLEST-Testpapier $\pm 10,20 \%$.
3. Die individuelle Schwankungsbreite der Serumcholinesterase in der Bevölkerung ist mit durchschnittlich $23,5 \%$ anzunehmen.
4. Als Übergangswerte zwischen normaler und pathologisch erniedrigter Enzymaktivität im Serum ergaben sich bei der spektrophotometrischen Methode nach KALOW $82 \Delta E \cdot 1000$ bei 26° ,

beim ACHOLEST-Testpapier 18 min. (19 - 22°). Die Streuung um diese Übergangswerte beträgt für die erste Methode ± 18 , für die zweite $\pm 4,5$.

5. Pathologisch erniedrigte Werte der SchE-Aktivität sind mit Sicherheit bei der Methode nach KALOW unter 64 Δ E $\cdot$ 1000 bei 26° und beim ACHOLEST über 23 Minuten anzunehmen.
6. In dem Intervall bei der Methode nach KALOW von 100 bis 64 Δ E $\cdot$ 1000 bei 26° und beim Testpapier ACHOLEST von 14 bis 23 Minuten besteht eine Unsicherheit in der Beurteilung einer pathologisch erniedrigten SchE-Aktivität.
7. Die gegenseitige Abhängigkeit beider Bestimmungsmethoden (Regressionsgerade III und VI) ist beim Vorliegen einer atypischen Serumcholinesterase gestört, die Aktivitätswerte liegen bei beiden Bestimmungsmethoden tiefer, reichen also mehr in den pathologisch erniedrigten Bereich hinein. Die ACHOLEST-Werte streben jedoch beim Vorliegen einer atypischen Serumcholinesterase noch mehr dem pathologischen Bereich zu als die vergleichsweise gemessenen Aktivitätswerte mit dem Substrat Benzoylcholin (nach KALOW). Die genetisch bedingte atypische Enzymvariante ist somit indirekt mit dem ACHOLEST-Test erfassbar, eine Differenzierung der einzelnen genbedingten Varianten ist jedoch nicht möglich. Diese können mit der Dibucainzahl nach KALOW erfaßt werden.
8. Auf die Angabe einer Umrechnungsformel zwischen beiden Bestimmungsmethoden wird verzichtet, obwohl eine direkte Beziehung zwischen beiden Bestimmungsmethoden in Form der Hyperbelfunktion $y = c \cdot x^{-1}$ gefunden wurde.

Literatur - Verzeichnis

1. ABDERHALDEN und PAFFRATH : Fermentf. 8, 299 (1926)
2. ACKERMANN, H. und K. VETTER: Verwendbarkeit des Cholinesterase-testpapiers "Biophan C" in der Klinik. 1.Mitteilung: Normalwerte, Streubreite, Empfindlichkeit. Das Deutsche Gesundheitswesen, 19, 1823
3. ALLES, G.A. und R.C. HAWES: J.biol.Chem. 133, 1375 (1940)
4. ALLES, G.A. und R.C. HAWES: J.Lab. clin. Med. 26, 845 (1941)
5. AMMON, R.: Die fermentative Spaltung des Acetylcholins Pflügers Arch. Ges.Physiol. 233, 486 (1933)
6. AMMON, R. und VOSS: Pflügers Arch. 235, 393, (1935)
7. AUGUSTINSON, K.B.: Neuere Ergebnisse auf dem Gebiet der Cholinesterase und ihre Bedeutung für Pharmakologie und Toxikologie, Arzneimittel-Forsch. 4, 242 (1954)
8. BREUER, H. und M. SCHÖNFELDER: Untersuchungen über die Beteiligung der Cholinesterase und Acetylcholinesterase an der Spaltung von Acetylcholin im Serum Clin.chim. Acta 6, 515 (1961)
9. CHURCHILL-DAVIDSON, H.C., W.J. GRIFFITHS: Simple Test-paper method for the clinical determination of plasma pseudocholinesterase. Brit.Med. J. 14, 994 (1961)
10. COHN, E.J., L.E.STRONG, HUGHES W.L. jun.: J.Amer. Chem.Soc., 68, 459 (1946)
11. DALE. J. Pharmacol. exper. therap. 6, 147 (1914)
12. DOENICKE, A. und F. HOLLE: Das Verhalten der Leberfunktion im postoperativen Schock. Fortschr.d.Medizin, 80, 253 (1962)
13. DOENICKE, A.: Neuere Erkenntnisse und Methoden auf dem Gebiet der Anästhesie - Serumcholinesterase in der Anästhesiologie 106.Colloquium über Narkose und Anästhesie. Hamburg 23.1.1963.

14. DOENICKE, A., TH. GÜRTNER, G. KREUZBERG, I. REMES, W. SPIESS
and K. STEINBEREITHNER: Serum Cholinesterase
Anenzymia.
Acta anæsth. Scandin. Vol. 7, 59 (1963)
15. ENGELHARDT und LÖWI:
Arch. exper. Path. 150, 1 (1930)
16. GLICK, D.: Some addition observations on the specificity
of cholinesterase.
J. Biol. Chem. 137, 357 (1941)
17. GOEDDE, H.W.; K. ALTLAND und K. BROSS: Genetik und Biochemie
der Pseudocholinesterasen.
Dtsch. med. Wschr. 88, 2510 (1963)
18. GOLL, K.H.: Auswertung von Laboratoriumsergebnissen.
III. Die Serumcholinesterase.
Z. ärztl. Fortbild., 56, 67, (1962)
19. GÜRTNER, TH., G. KREUZBERG and A. DOENICKE: Comparative studies
on cholinesterase activity in serum and liver cells
Acta anæsth. Scandin. Vol 7, 69 (1963)
20. HERZFELD, E. und STUMPF, Ch.: Ein neuer Kurztest zur Bestimmung
der Serumcholinesteraseaktivität.
Wien. Klin. Wschr., 67, 874 (1955)
21. HOLLE, F. und A. DOENICKE: Cholinesterase in der Chirurgie
Erg. Chir. 43, 77 (1961)
22. JABSA, Z., M. SCHÖNFELDER und H. BREUER: Vergleich zwischen der
manometrischen und der Testpapiermethode zur
Bestimmung der Cholinesterase-Aktivität im Serum.
Klin. Wschr. 39, 966 (1961)
23. KALOW, W. and H. A. LINDSAY: A comparison of optical and
manometric methods for the assay of human serum
cholinesterase.
Canad. J. Biochem. Physiol. 33, 568 (1955)
24. KALOW, W. and K. GENEST: A method for the detection of atypical
forms of human serum cholinesterase. Determination
of dibucaine numbers.
Canad. J. Biochem. Physiol. 35, 339 (1957)

25. LANG, W., und G.INTSESULOGLIU: Zur Methodik und klinischen Bedeutung der Cholinesterasebestimmung im Serum. Klin. Wschr. 40, 312 (1962)
26. LÖWI und NAVRATL: Pflügers Arch. 214, 687 u. 689 (1926)
27. MAIBACH, E.: Serumcholinesterase und Myristoylcholinesterase der Leber bei Patienten mit Cholelithiasis. Zschr. f.klin.Chemie, 2, 87 (1964)
28. MAIER, E.H.: Serumcholinesterase und Lebererkrankungen Dtsch.Med.Wschr., 81, 1674 (1956)
29. MENDEL, B., D.B.MUNDELL und H.RUDNEY: Biochem. J. 37, 473 (1943)
30. MENDEL, B. und H.RUDNEY: Biochem. J. 37, 59 (1943)
31. MICHEL, H.O.: An electrometric method for the determination of red blood cell and plasma cholinesterase activity. J. Lab. clin. Med. 34, 1564 (1949)
32. PILZ, W.: Zur vermeintlichen Identität der Acetylcholin und Tributyrin spaltenden Fermente des menschlichen Serums. Z. ges. exp. Med. 132, 310 (1959)
33. PILZ, W. und H.HÖRLEIN: Beitrag zur Kenntnis der Succinylspaltung und deren möglichen Zusammenhang mit atypischen Serumesterasen. Hoppe-Seyler's Z. physiol.Chem. 339, 157 (1964)
34. PILZ, W.: Cholinesterasen des menschlichen Serums. Dtsch.med.Wschr. (1965) im Druck.
35. PLATTNER und HINTNER: Pflügers Arch. 225, 19 (1930)
36. RICHTERICH, R.: Enzympathologie, Enzyme in Klinik und Forschung Springer-Verlag, Berlin 1958
37. RICHTERICH, R.: Bestimmung der Serumcholinesterase mit Hilfe eines Indikatospapieres. Schweiz.Med.Wschr. 92, 263 (1962)

38. SAILER, S., H.BRAUNSTEINER: Über eine neue, sehr einfache Methode zur Bestimmung der Serumcholinesteraseaktivität und ihre klinische Bedeutung.
Klin. Wschr. 37, 986 (1959)
39. SAILER, S. und H.BRAUNSTEINER: Die Bedeutung der Bestimmung der Serumcholinesteraseaktivität.
Wien.Zschr.f.inn.Med., 40, 172 (1959)
40. STEDMAN, E., STEDMAN, E. und EASSON:
Biochem. J.Brit. 26, 2056 (1932)
41. STEFANELLI, N.: Die Korrelation zwischen dem Albumingehalt und der Cholinesteraseaktivität des Blutserums und ihre Beurteilung bei Albuminverlust.
Klin.Wschr. 39, 1019 (1961)
42. STEINBEREITHNER, K.: Cholinesterasevarianten und Narkose-risiko.
Wien. klin.Wschr. 76, 785 (1964)
43. WANG, R.J.H.: Determining Cholinesterase Activity in Human Plasma
J.Amer. Med.Ass. 183, 792 (1963)
44. WERLE, E.: Übersichtsreferat: Die Cholinesterase (1)
Fermentf., 17, 230 (1943)
45. WEIDEMANN, H.E.: Die Bestimmung der Serumcholinesterase unter den neuen Gesichtspunkten der Acholestmethode nach längerer klinischer Prüfung und nach statistischem Vergleich mit anderen Leberfunktionsprüfungen.
Inaug. Dissertat. Med.Fak. Univ.Köln (1963)
46. ZELLER, E.A. und A.BISSEGER:
Helv. chim.Acta 26, 1619, (1943)

Tabelle 2

Anmerkungen:

Die in Klammern () stehenden Zahlen in einigen Zahlenreihen geben die Anzahl der Beobachtungen(m) in den einzelnen Spalten(k) an.

Die Regressionsgerade VI wurde aus Einzelwerten ($\bar{x}_i/\bar{y}_i$) berechnet (Siehe Abb. 14)

Die gemeinsamen Mittelwertpunkte ($\bar{x}_i/\bar{y}_i$), aus denen die einzelnen Regressionsgeraden errechnet wurden

Regressionsgerade	I		II		III		IV		V		VI	
	$\bar{x}_i$	$\bar{y}_i$	$\bar{x}_i$	$\bar{y}_i$	$\bar{x}_i$	$\bar{y}_i$	$\bar{x}_i$	$\bar{y}_i$	$\bar{x}_i$	$\bar{y}_i$	x_i	y_i
Methode	KALOW	ACHOLEST neu	KALOW	ACHOLEST alt	KALOW	ACHOLEST alt u. neu	KALOW	ACHOLEST alt u. neu	KALOW	ACHOLEST alt u. neu	KALOW	ACHOLEST
Dimension	$\Delta E 1000$	$\frac{1}{\min} 1000$	$\Delta E 1000$	$\frac{1}{\min} 1000$	$\Delta E 1000$	$\frac{1}{\min} 1000$	$\Delta E 1000$	$\frac{1}{\min} 1000$	$\frac{1}{\Delta E}$	min.	$\Delta E 1000$	$\frac{1}{\min} 1000$
	27,6	21,6 (7)	24,6	18,6 (5)	5,8	22,5 (11)	-7, (11)	16,6	33,7	45,2 (12)	58	37,0
	33,7	19,7 (3)	33,9	19,5 (9)	33,8	19,5 (12)	35,5 (18)	22,5	26,6	51,2 (12)	44	25,0
	45,5	26,7 (7)	45,0	32,9 (16)	45,1	30,7 (23)	51,0 (24)	28,9	22,1	32,6 (23)	76	37,0
	54,9	38,0 (10)	55,5	38,8 (25)	55,3	38,6 (35)	59,1 (29)	35,8	18,1	25,9 (33)	50	20,0
	64,7	38,0 (9)	64,9	44,1 (45)	64,9	42,9 (54)	67,2 (13)	40,0	15,4	23,3 (54)	95	47,6
	74,5	47,8 (15)	74,6	51,0 (48)	74,6	50,3 (63)	64,7 (12)	41,6	13,4	19,9 (63)	81	40,0
	85,5	51,8 (26)	84,3	59,5 (65)	84,6	57,1 (91)	71,9 (17)	43,4	11,8	17,5 (91)	119	58,8
	94,5	62,5 (19)	95,1	61,7 (40)	94,9	62,1 (59)	75,2 (18)	45,4	10,5	16,1 (59)	59	32,2
	104,8	66,2 (17)	104,6	75,7 (44)	104,7	73,0 (61)	72,4 (17)	47,6	9,6	13,7 (61)		
	114,0	78,1 (19)	114,4	79,4 (49)	114,3	78,7 (68)	73,4 (26)	50,0	8,7	12,7 (68)		
	123,8	80,6 (13)	124,9	81,9 (47)	124,7	81,3 (60)	76,2 (26)	52,6	8,0	12,3 (60)		
	134,2	90,9 (20)	133,8	92,6 (24)	134,0	91,7 (44)	90,8 (30)	55,5	7,5	10,9 (44)		
	144,1	98,0 (11)	145,3	95,2 (24)	145,0	96,1 (35)	95,6 (35)	58,8	6,9	10,4 (35)		
	154,7	104,1 (9)	154,0	102,0 (21)	154,2	103,1 (30)	89,8 (26)	62,5	6,5	9,7 (30)		
					164,6	106,4 (10)	96,4 (62)	66,6	6,1	9,4 (10)		
						107,9 (53)	107,9 (53)	71,4				
						117,0 (38)	117,0 (38)	76,9				
						118,4 (47)	118,4 (47)	83,3				
						125,0 (50)	125,0 (50)	90,9				
						136,8 (58)	136,8 (58)	100,0				
						139,4 (30)	139,4 (30)	111,0				
						148,4 (24)	148,4 (24)	125,0				



A b b i l d u n g e n
=====



Abb.1: Darstellung von 686 Werten der SchE-Aktivität (DN 75-100), Gleichzeitige Bestimmungen mit der spektrophotometrischen Methode nach KALOW in ΔE 1000 bei 26° C (x-Achse) und mit dem ACHOLEST-Testpapier in Minuten bei 19° bis 22° (y-Achse).

Abb.2: Gemeinsame Mittelwertspunkte ($\bar{x}_i \Delta \bar{y}_i$) der 686 Werte der SChE-Aktivität (DN 75-100) aus Abb.1, eingetragen in das beidachsig dekadisch logarithmische System mit den Werten: $\log \Delta E$ 1000 auf der x-Achse und in log min. auf der y-Achse.

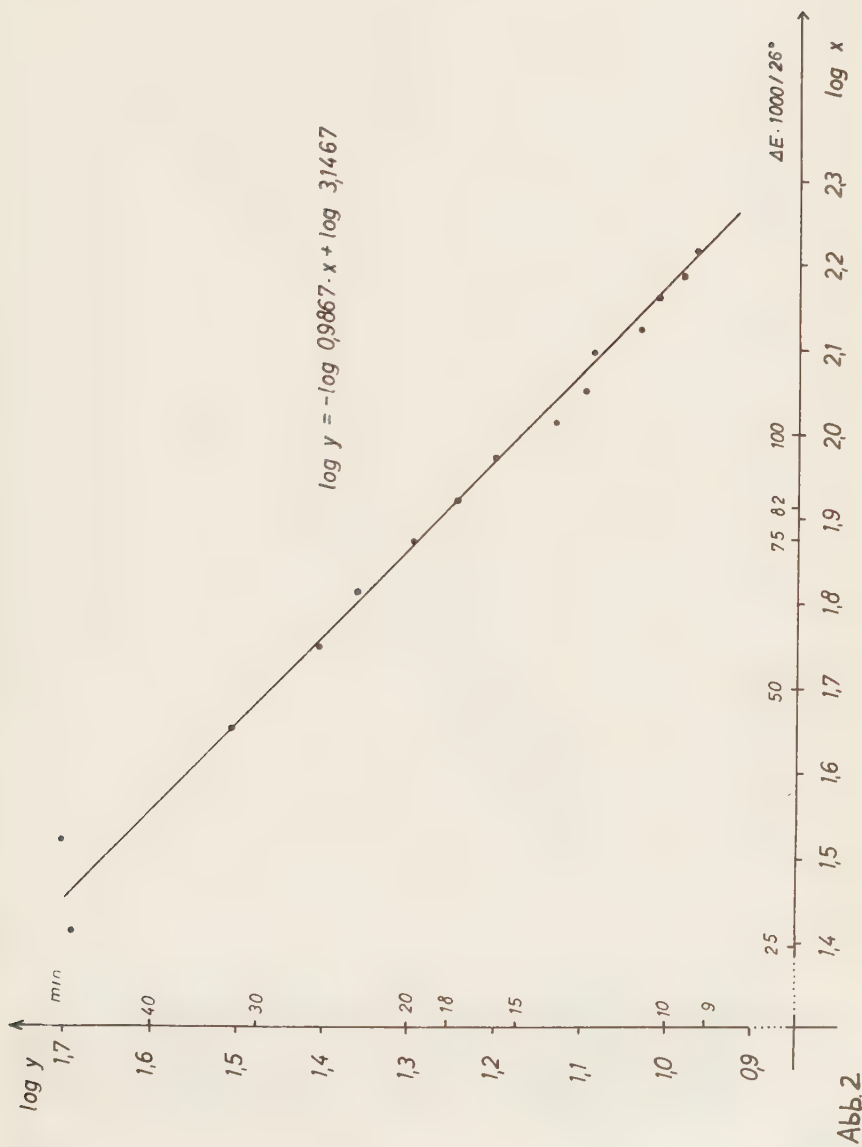


Abb. 5: Darstellung der 686 Werte der SChE-Aktivität (DN 75-100).
Die Meßwerte der spektrophotometrischen Methode nach KALOW
in $\frac{1}{\text{min}}$ bei 1000 bei 19° (x-Achse) und die reciproken ACHCLEST-
Werte in $\frac{1}{\text{min}}$ 1000 bei 19° bis 22° (y-Achse).

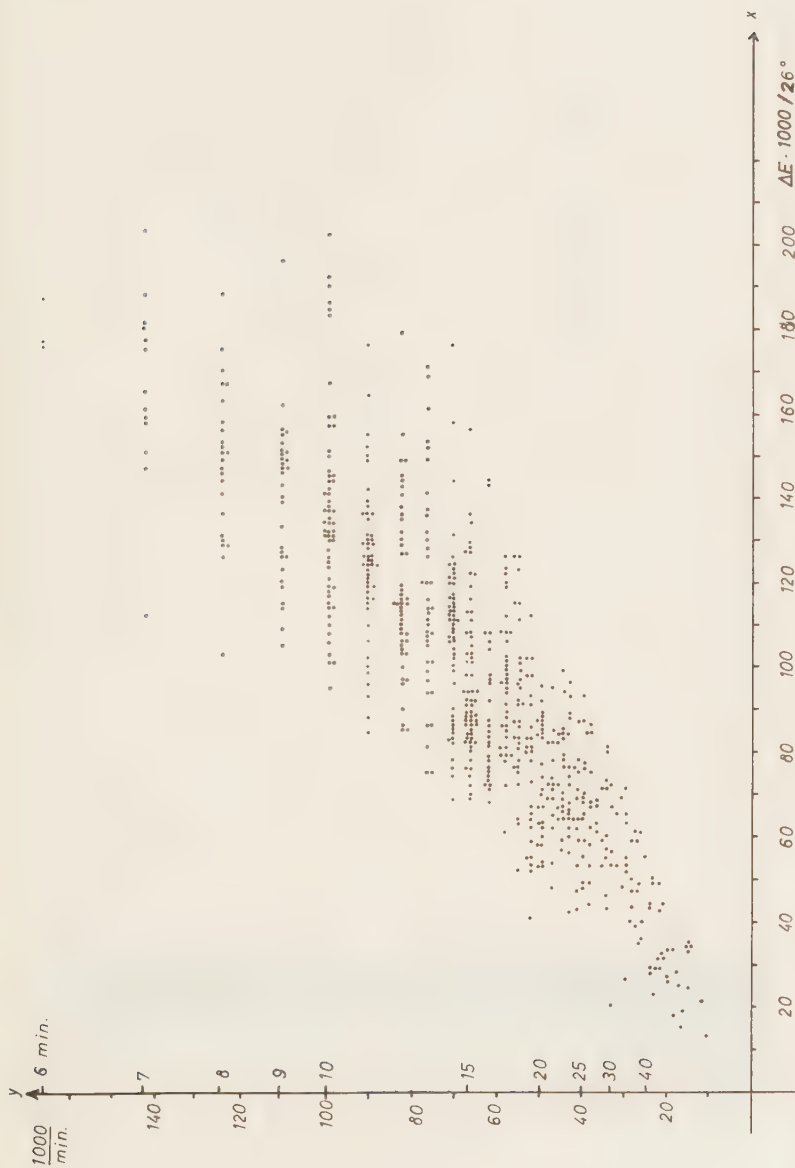


Abb. 3

Abb.4: Gemeinsame Mittelpunktswerte ($\bar{x}_i$ / $\bar{y}_i$) von 496 Messungen der SchE-Aktivität (DN 75 - 100), gleichzeitig bestimmt mit der spektrophotometrischen Methode nach KALOW in $\triangle$ E 1000 bei 26° (x-Achse) und mit dem alten ACHOLEST-Testpapier (A) in $\frac{1}{\text{min}}$ 1000 bei 19° bis 22° (y-Achse) und ihrer Regressionsgeraden Y (II).

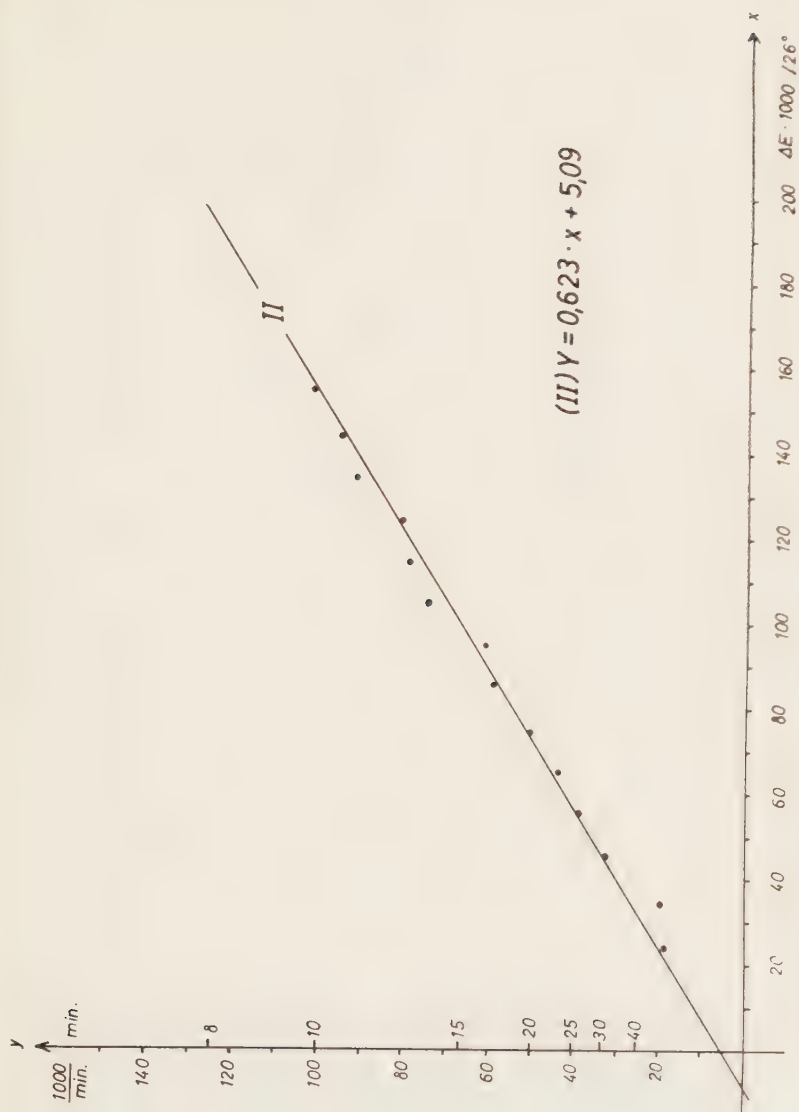


Abb. 4

Abb.5: Gemeinsame Mittelwertspunkte ($\bar{x}_i \Delta \bar{y}_i$) von 190 Messungen der SChE-Aktivität (DN 75 - 100), gleichzeitig bestimmt mit der spektrophotometrischen Methode nach KALOW in ΔE 1000 bei 26° (x-Achse) und mit dem neuen ACHOLEST-Testpapier (B) in $\frac{1}{\text{min}}$ 1000 bei 19° - 22° (y-Achse) und ihrer Regressionsgeraden X (I).

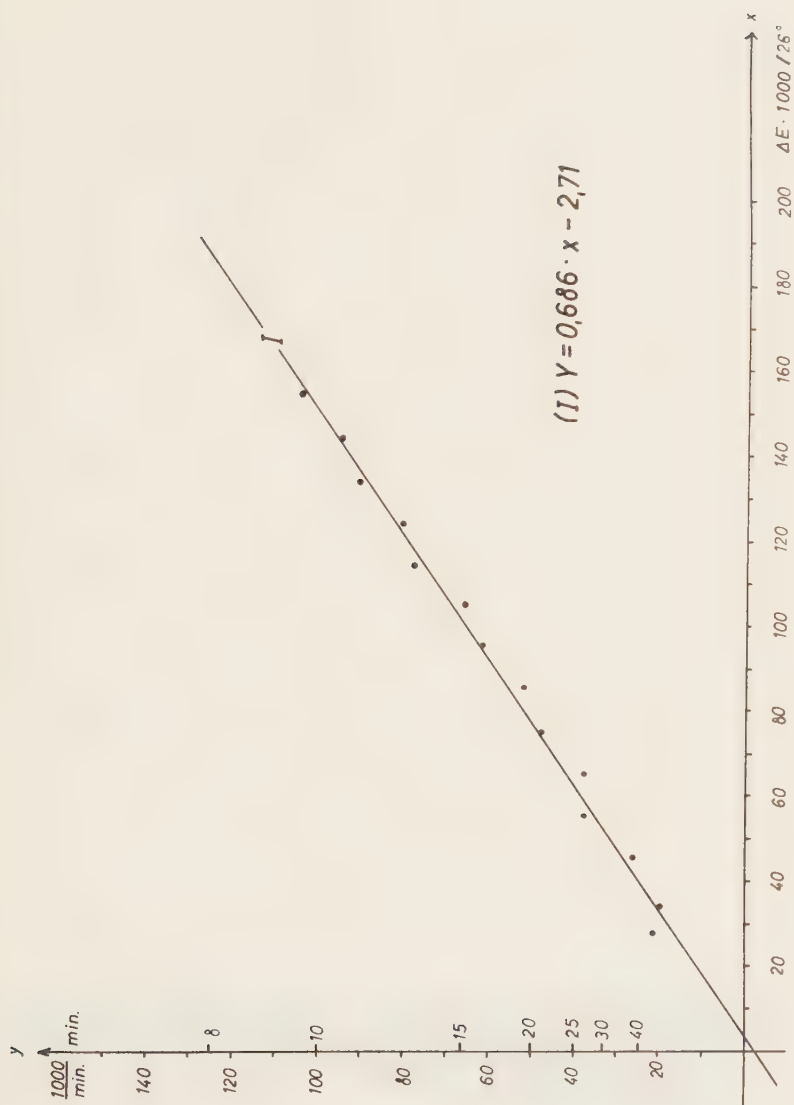


Abb. 5

Abb.6: Gemeinsame Mittelwertspunkte ($\bar{x}_i \Delta \bar{y}_i$) von 686 Messungen der SchE-Aktivität (DN 75-100) aus der Abb.3, die Werte der spektrophotometrischen Methode nach KALOW in $\Delta E 1000$ bei 26° (x-Achse) und die Werte des alten (A) und neuen (B) ACHOLEST-Testpapiere in $\frac{1}{\text{min}} 1000$ bei 19° bis 22° (y-Achse), und ihrer Regressionsgeraden Y (III).

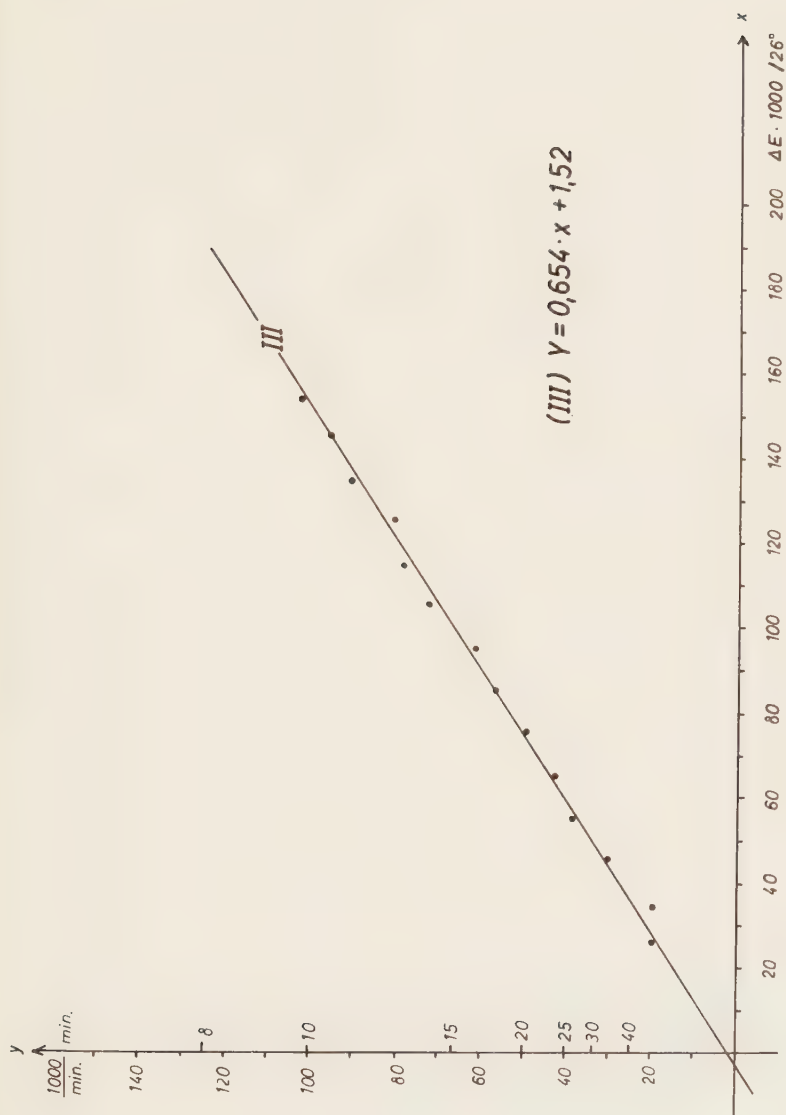


Abb. 6

Abb. 7: Darstellung der 3 Regressionsgeraden II, I und III aus den Abbildungen 4, 5 und 6.

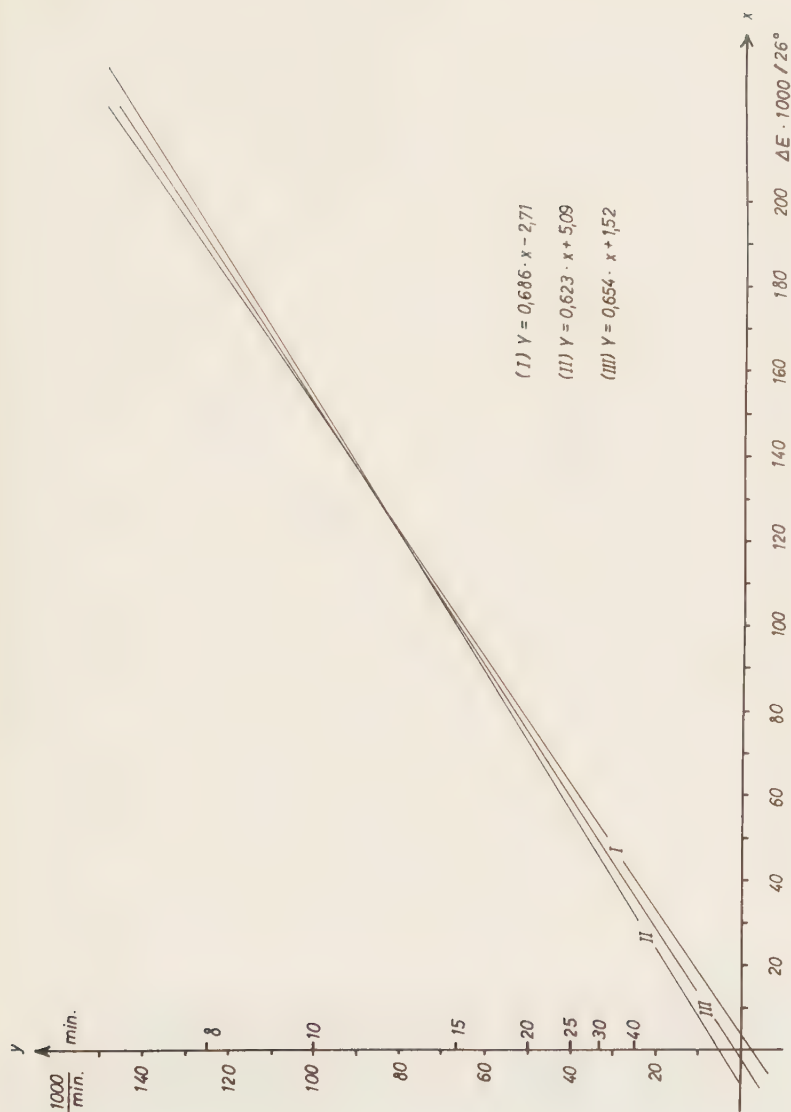


Abb. 7

Abb.8: Gemeinsame Mittelpunktswerte ($\bar{y}_i \triangle \bar{x}_i$) der 686 Bestimmungen der SChE-Aktivität (DN 75-100), ermittelt durch Gruppierung der einzelnen Werte (x_i) der Methode nach KALOW auf der x-Achse zu den einzelnen Werten des ACHOLEST-Testpapiers (y_i) auf der y-Achse, und ihrer Regressionsgeraden IV.

$\triangle$ E 1000 bei 26° auf der x-Achse, $\frac{1}{\text{min}}$ 1000 bei $19^\circ - 22^\circ$ auf der y-Achse.

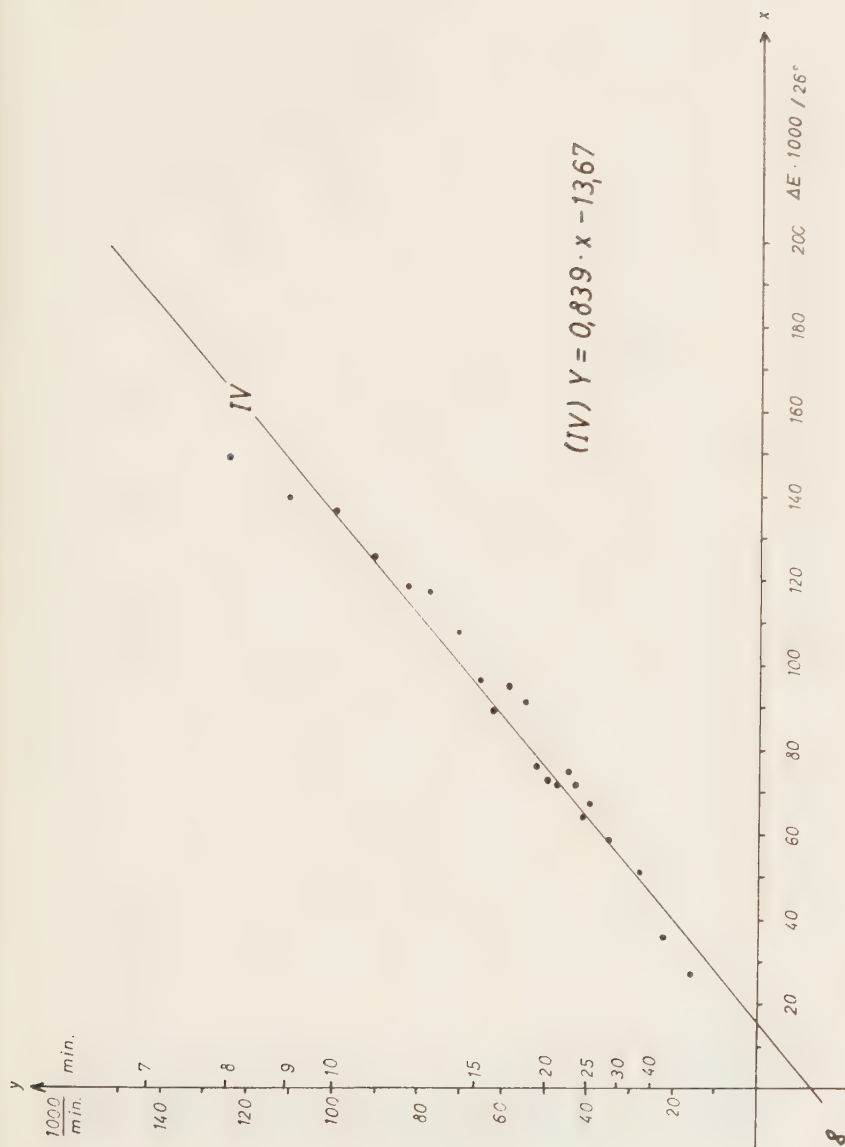


Abb. 8

Abb. 6: Darstellung der Regressionsgeraden III und IV der Schnittpunkte beider Geraden entspricht den im Text angegebenen Grenzwerten für beide Methoden beim Übergang von normaler zu pathologisch erniedrigter SchE-Aktivität.

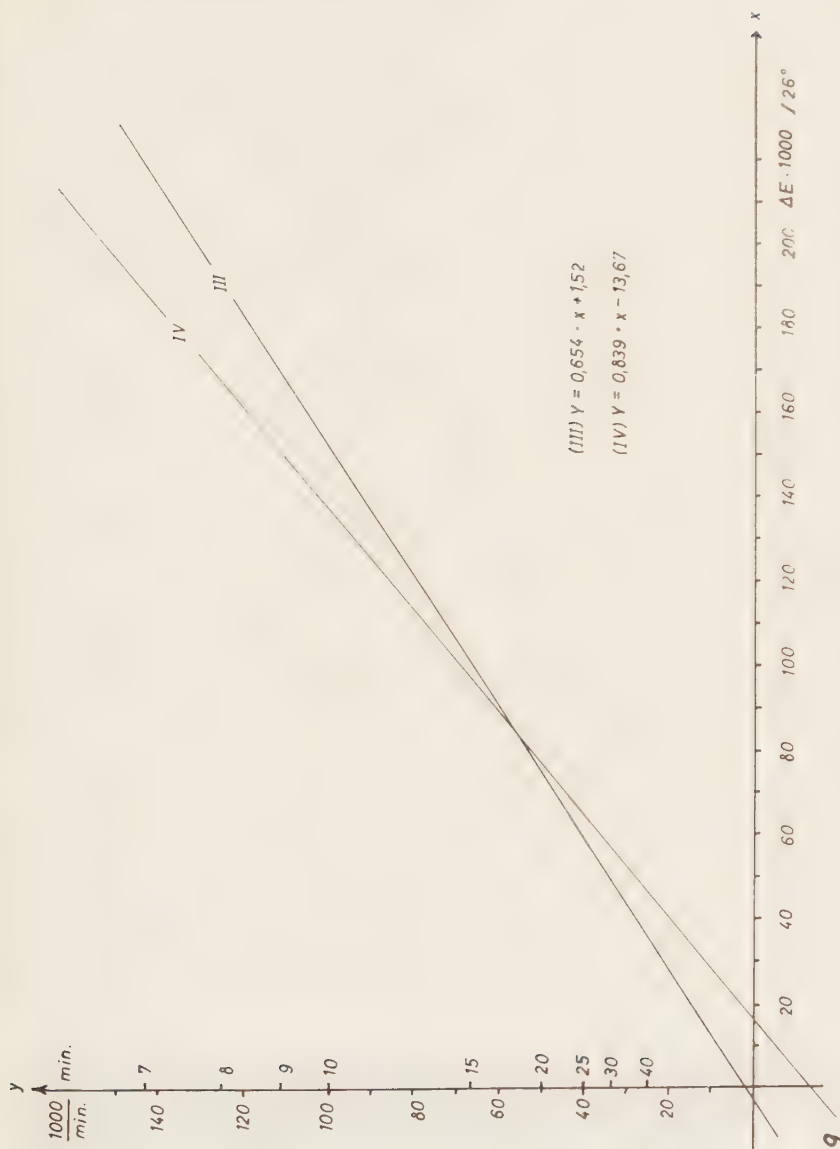


Abb. 9

Abb. 10 a: Darstellung der 95%igen zweiseitigen Signifikanzschranken der spektrophotometrischen Methode nach KALOW im Bereich von $65 - 137 \Delta E \cdot 1000$ bei 26° entlang der Regressionsgeraden IV. Die gestrichelte Linie zeigt die zweiseitigen 95%igen Signifikanzschranken bei Eliminierung des methodischen Meßfehlers.

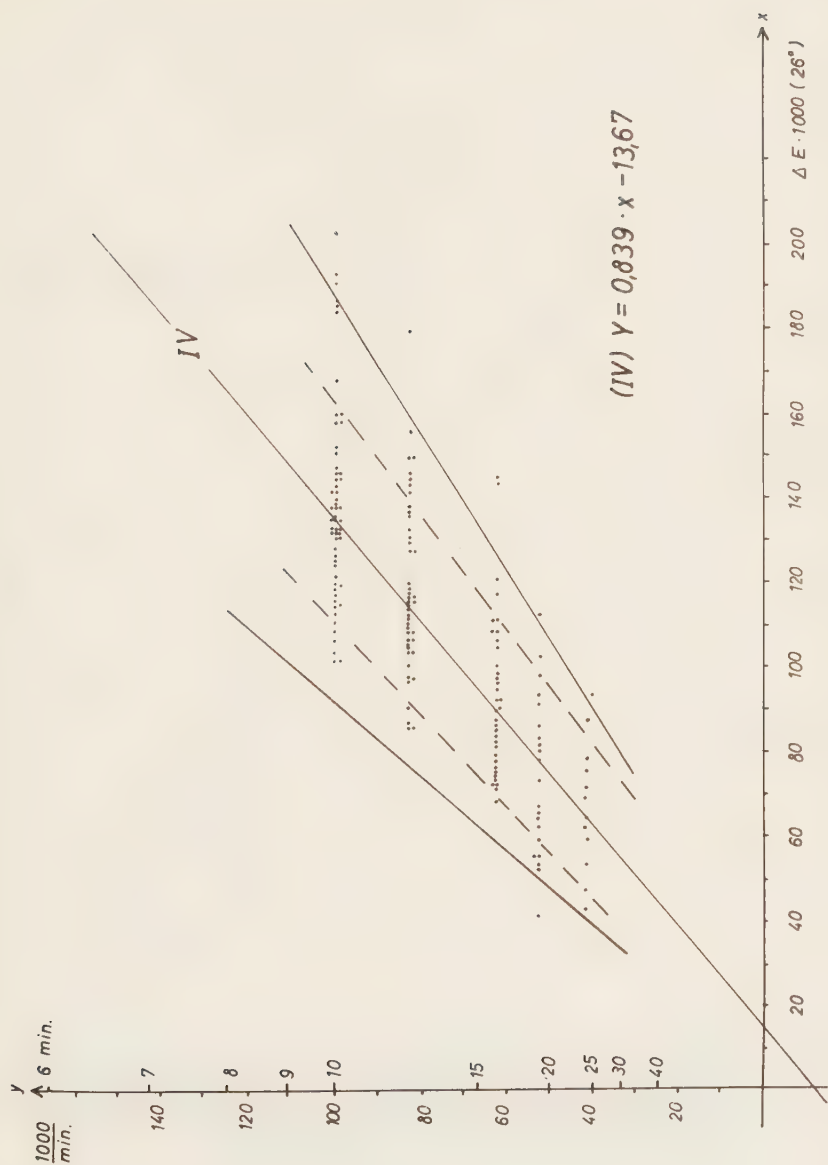


Abb. 10 a

Abb. 10 b: Darstellung der 95%igen zweiseitigen Signifikanzschranken der ACHOLEST-Testpapiermethode im Bereich von 10 - 32 Minuten entlang der Regressionsgerade V. Die gestrichelte Linie zeigt die zweiseitigen 95%igen Signifikanzschranken bei Eliminierung des methodischen Meßfehlers.

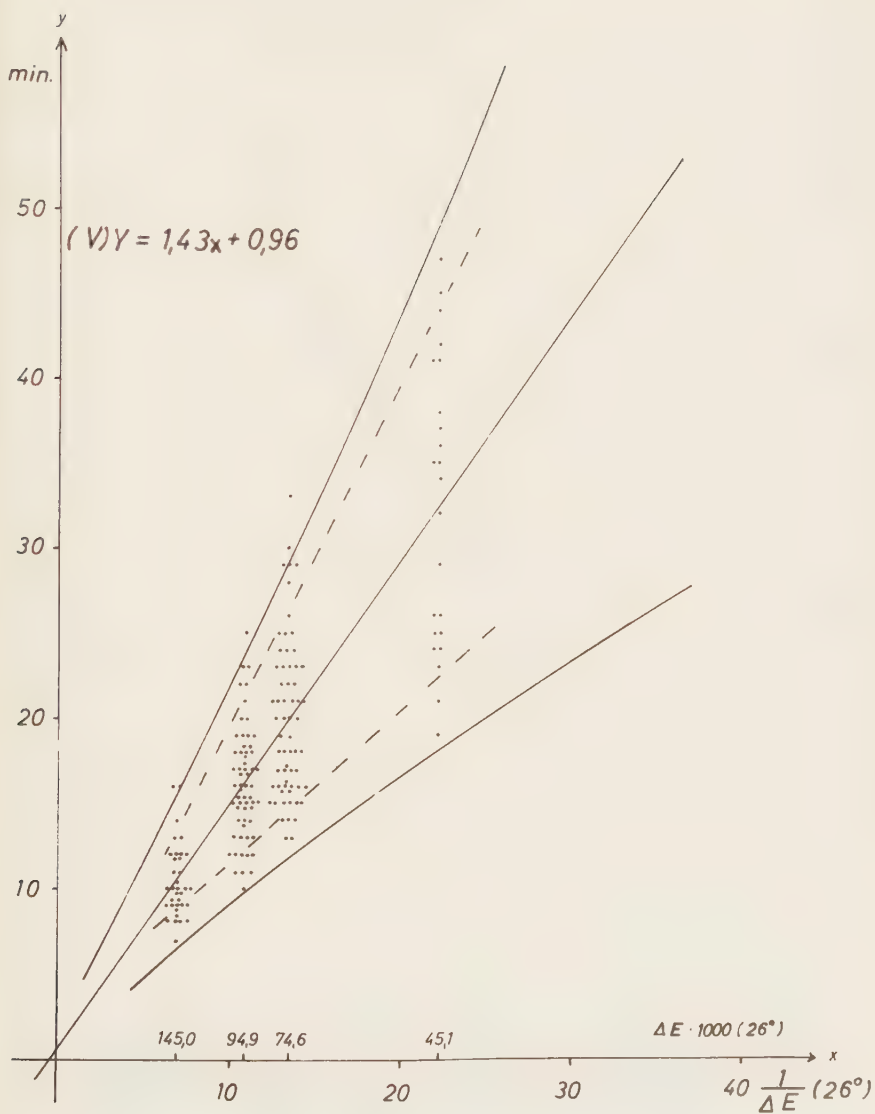


Abb. 10 b

Abb.11: Verteilung der genetisch bedingten SChE-Varianten um die Regressionsgerade III.

- o = atypische Varianten (DN 20 - 35)
- x = intermediäre Varianten (DN 50 - 69)
- . = Varianten mit DN von 70 - 74.



Abb. 12: Darstellung der Regressionsgeraden III, entsprechend dem normalen Gentypus, und der Regressionsgeraden VI, ermittelt aus 8 Werten der atypischen SChE-Variante (DN 20 - 35), die gleichzeitig mit der spektrophotometrischen Methode nach KALOW in ΔE 1000 bei 26° (x-Achse) und mit dem ACHOLEST - Testpapier in $\frac{1}{\min}$ 1000 bei 19° - 22° (y-Achse) gemessen wurden.

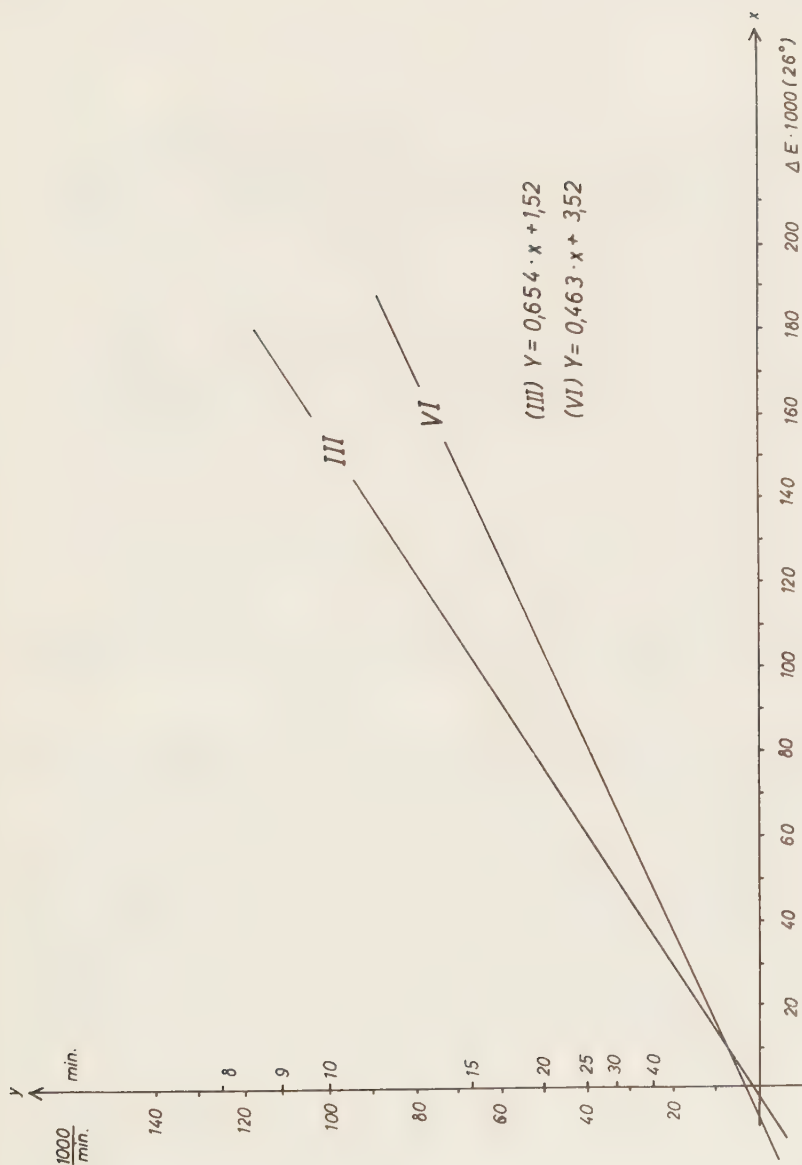


Abb. 12

Lebenslauf

Am 6.August 1936 wurde ich als Sohn des Assistenzarztes Dr.Ludwig Schmidinger und seiner Ehefrau Anna Maria geb.Sinner in München geboren.

Die Volksschule besuchte ich in München.

Am 27.September 1944 starb mein Vater.

1946 trat ich in das Maximilian Gymnasium in München ein.

Nach dem Tod meiner Mutter am 26.Juli 1952 übernahm mein Onkel, Freiherr Adrian van der Hoop in Rodheim bei Gießen die Vormundschaft.

Ab 1952 besuchte ich das Gymnasium in Gießen und legte dort 1955 die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1955 begann ich mit dem Studium der Zahnheilkunde an der Universität Marburg und bestand 1957 die zahnmedizinische Vorprüfung.

Ab Wintersemester 1957 studierte ich an der Universität München zunächst noch Zahnmedizin.

Ab Wintersemester 1958 studierte ich Medizin, legte am 26.10.1959 die medizinische Vorprüfung ab und beendete mein Studium an der Universität München 1962 mit dem medizinischen Staatsexamen.

Ab Januar 1963 leistete ich meinen Dienst als Medizinalassistent an der Chirurgischen Poliklinik der Universität München, im Krankenhaus des III.Ordens in München, im Städt.Krankenhaus Landsberg a.Lech und in der II.Med.Klinik der Universität München.

Seit 16.Juli 1964 bin ich verheiratet und habe seit 20.Juni 1965 eine Tochter.

Herrn Privatdozenten Dr. med. A. Doenicke danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und für die stets hilfreiche Unterstützung bei der Bearbeitung.

Herrn Professor Dr. med. F. Holle darf ich für die Möglichkeit, die Untersuchungen an seiner Klinik durchzuführen, sowie für die Übernahme des Korreferates ergebenst danken.

THE HISTORY OF THE
CITY OF BOSTON

From the first settlement of the city in 1630 to the present time, the history of Boston is a story of growth and development. The city has been a center of commerce, industry, and culture for over three centuries. Its location on a natural harbor made it an ideal place for trade and shipping. The city's growth was fueled by the arrival of immigrants from Europe and the Americas, who brought with them new ideas and skills. The city's economy was based on trade and commerce, and it became a major center of the American economy. The city's culture was shaped by its diverse population, and it became a center of intellectual and artistic life. The city's history is a testament to the resilience and adaptability of the American people.

The city's growth was fueled by the arrival of immigrants from Europe and the Americas, who brought with them new ideas and skills. The city's economy was based on trade and commerce, and it became a major center of the American economy. The city's culture was shaped by its diverse population, and it became a center of intellectual and artistic life. The city's history is a testament to the resilience and adaptability of the American people.

The city's growth was fueled by the arrival of immigrants from Europe and the Americas, who brought with them new ideas and skills. The city's economy was based on trade and commerce, and it became a major center of the American economy. The city's culture was shaped by its diverse population, and it became a center of intellectual and artistic life. The city's history is a testament to the resilience and adaptability of the American people.

The city's growth was fueled by the arrival of immigrants from Europe and the Americas, who brought with them new ideas and skills. The city's economy was based on trade and commerce, and it became a major center of the American economy. The city's culture was shaped by its diverse population, and it became a center of intellectual and artistic life. The city's history is a testament to the resilience and adaptability of the American people.

The city's growth was fueled by the arrival of immigrants from Europe and the Americas, who brought with them new ideas and skills. The city's economy was based on trade and commerce, and it became a major center of the American economy. The city's culture was shaped by its diverse population, and it became a center of intellectual and artistic life. The city's history is a testament to the resilience and adaptability of the American people.

The city's growth was fueled by the arrival of immigrants from Europe and the Americas, who brought with them new ideas and skills. The city's economy was based on trade and commerce, and it became a major center of the American economy. The city's culture was shaped by its diverse population, and it became a center of intellectual and artistic life. The city's history is a testament to the resilience and adaptability of the American people.

The city's growth was fueled by the arrival of immigrants from Europe and the Americas, who brought with them new ideas and skills. The city's economy was based on trade and commerce, and it became a major center of the American economy. The city's culture was shaped by its diverse population, and it became a center of intellectual and artistic life. The city's history is a testament to the resilience and adaptability of the American people.

The city's growth was fueled by the arrival of immigrants from Europe and the Americas, who brought with them new ideas and skills. The city's economy was based on trade and commerce, and it became a major center of the American economy. The city's culture was shaped by its diverse population, and it became a center of intellectual and artistic life. The city's history is a testament to the resilience and adaptability of the American people.

The city's growth was fueled by the arrival of immigrants from Europe and the Americas, who brought with them new ideas and skills. The city's economy was based on trade and commerce, and it became a major center of the American economy. The city's culture was shaped by its diverse population, and it became a center of intellectual and artistic life. The city's history is a testament to the resilience and adaptability of the American people.

